Série C. N° 12
N° d'ordre : 24

# THÈSES

PRÉSENTÉES

# A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES

POUR OBTENIR

**LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES**

PAR

**Pierre RAZET**

---

**1re THÈSE.** — Recherches sur l'Uricolyse chez les Insectes.

**2e THÈSE.** — Propositions données par la Faculté.

**Soutenues le 24 Mai 1961**
**devant la Commission d'Examen**

M. POISSON..... *Président.*

MM. BRUNEL..... RICHARD..... MAILLET..... *Examinateurs.*

---

IMPRIMERIE BRETONNE
RENNES

1961

# THÈSES

Série C. N° 12
N° d'ordre : 24

PRÉSENTÉES

# A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES

POUR OBTENIR

**LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES**

PAR

**Pierre RAZET**

---

**1re THÈSE.** — Recherches sur l'Uricolyse chez les Insectes.

**2e THÈSE.** — Propositions données par la Faculté.

**Soutenues le 24 Mai 1961**
**devant la Commission d'Examen**

M. POISSON..... *Président.*

MM. BRUNEL..... } *Examinateurs.*
RICHARD..... }
MAILLET..... }

---

IMPRIMERIE BRETONNE
RENNES

1961

# FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES

| | |
|---|---|
| *Doyen* ..... | M. MARTIN. |
| *Assesseur* ..... | M. POISSON. |
| *Doyens honoraires* ..... | MM. BOUZAT, MILON, TRÉHIN, SCHMITT. |
| *Professeurs honoraires* ..... | MM. BOUZAT, CONDUCHÉ, ANTOINE, FREYMANN, TRÉHIN, ROHMER, LE MOAL. |

## PROFESSEURS TITULAIRES

*Sciences Mathématiques :*

M. BRILLOUET Georges
M^lle CHARPENTIER Marie
M^lle LIBERMANN Paulette
M. MARTIN Yves
M. PAUC Christian.

*Sciences Physiques :*

M. LE BOT Jean
M. LE MONTAGNER Serge
M. RAVILLY Emile
M. ROBIN Stéphane
M. SCHMITT Max
M. VACHER Michel
M. VIGNERON Léopold.

*Sciences Chimiques :*

M. DUNOYER Jean
M. PELTIER Daniel
M. SALMON-LEGAGNEUR François
M. VÈNE Jean.

*Sciences Biologiques :*

M. HAGÈNE Philippe
M. NICOLLON DES ABBAYES Henri
M. POISSON Raymond
M. RICHARD Gaston
M. VAUGIEN Léon
M. VILLERET Serge.

*Sciences de la Terre :*

M. MILON Yves.

## PROFESSEURS ET MAITRES DE CONFÉRENCES

*Sciences Mathématiques :*

M. BENZECKRI Jean-Paul
M. BOCLÉ Jean.
M^lle DELAVAULT Huguette
M. GLAESER Georges
M. GUERINDON Jean
M. LEGRAND Gilles
M. MOLINARO Italico
M. PETRESCU Julian
M. RIGUET Jacques
M. VIVIER Marcel.

*Sciences Physiques :*

M. BALQUET Robert
M. BOULLOUD André
M. COLLET Luc
M. GOBIN Francis
M. JOHANNIN Pierre
M^me JOHANNIN Andrée
M. LERMUSIAUX Albert
M. MEINNEL Jean
M. MÉVEL Jean-Yves
M. MÉZENCEV Romane
M. MONOD-HERZEN Gabriel
M^me ODIOT Simone
M. PIRONNEAU Yves
M^me ROBIN Simone.

*Sciences Chimiques :*

M. FOUCAULT André
M. GRAFF Pierre
M. LANG Paul
M. PRIGENT Jacques
M. RIO Guy
M. VALLET Pierre.

*Sciences Biologiques :*

M. ALLEGRET Paul
M. BOISTEL Jacques
M. CLAUSTRES Georges
M^lle DEBRAUX Germaine
M^lle GOAS Marie
M. MAILLET Pierre
M. SELLIER Robert.

*Sciences de la Terre :*

M^lle DURAND Suzanne
M. PHILIPPOT André
M^lle RENAUD Alzine.

Secrétaire principal de la Faculté : M. BOURDIGUEL Robert

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

## AVANT-PROPOS

Le sujet des recherches qui font l'objet de ce mémoire m'a été proposé par MM. les Professeurs Poisson et Brunel.

M. le Professeur Poisson, membre correspondant de l'Institut, a été mon maître en zoologie. Il a toujours porté le plus grand intérêt à mes recherches, et m'a fait bénéficier de sa haute compétence en entomologie. Grâce à son appui, j'ai toujours obtenu l'appareillage parfois coûteux nécessaire à mes recherches. Il m'a fait l'honneur de présider le jury chargé de juger ce travail. Je le prie de trouver ici l'expression de ma profonde et respectueuse gratitude.

Je ne saurais dire combien je dois à M. le Professeur Brunel. J'ai dû très souvent faire appel à sa haute compétence dans les domaines métaboliques et, chaque fois, j'ai pu apprécier en même temps que sa grande affabilité la sûreté de ses conseils. Je lui en exprime ma profonde gratitude, et le remercie tout spécialement d'avoir bien voulu venir apporter officiellement son avis.

Depuis son arrivée à Rennes, M. le Professeur Richard m'a toujours apporté son soutien très cordial. Ses critiques amicales m'ont été fort précieuses. Je lui en suis très reconnaissant, et le remercie en particulier, ainsi que M. le Professeur Maillet, d'avoir accepté de juger mon travail.

M. le Professeur Grassé, membre de l'Institut, a bien voulu présenter mes notes préliminaires ; à plusieurs reprises, il m'a accordé des entretiens pleins d'enseignements. J'ai de même bénéficié des avis et des conseils précieux de M. le Professeur Lederer, de la Faculté des Sciences de Paris, et de M. le Professeur Denis, de la Faculté des Sciences de Dijon. Je leur en exprime ma très respectueuse gratitude.

J'adresse mes plus sincères remerciements à tous mes collègues et amis qui m'ont aidé à me procurer ou à déterminer les Insectes étudiés, et tout spécialement MM. Hurpin et Sylvestre de Sacy, de la station centrale de Zoologie agricole de l'Institut national de la Recherche agronomique, ainsi que MM. Barbotin, Sellier, Denis, Lefeuvre, Michel, Ehanno, Cherel, Soures, M. l'abbé Amoureux, Mmes Richard, Gaudin, Le Faucheux.

Je remercie aussi très cordialement, pour l'aide précieuse qu'il m'a apportée, le personnel technique du laboratoire, et tout spécialement Mme Brient, qui a assuré l'entretien des élevages, et qui m'a aidé avec beaucoup de dévouement lors de la rédaction et de la présentation définitive.

J'exprime enfin ma gratitude au Centre National de la Recherche Scientifique qui à plusieurs reprises m'a accordé des subventions pour achat de matériel.

Laboratoire de Zoologie,
Faculté des Sciences, Rennes
Mars 1961.

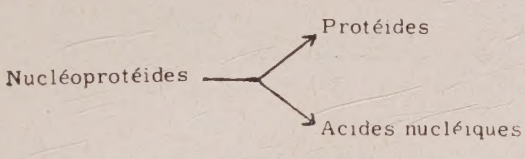
Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544724_0004

## INTRODUCTION

# L'ACIDE URIQUE ET L'URICOLYSE

L'**Acide urique,** ou 2-6-8-trioxypurine, est un élément très important du catabolisme. Il est un chaînon dans la dégradation enzymatique des nucléoprotéides. On sait en effet que les molécules des nucléoprotéides sont dédoublées selon le schéma :




Les acides nucléiques sont eux-mêmes formés de plusieurs constituants :

1° de l'acide phosphorique,
2° des oses (pentoses),
3° des bases puriques,
4° des bases pyrimidiques.

L'action d'une série d'enzymes amène la séparation de ces divers composants. C'est ainsi que sont libérées en particulier les bases puriques (adénine et guanine). Ces bases seront ensuite transformées en xanthine et hypoxanthine par l'action de désaminases, puis oxydées en *acide urique* grâce à la xanthine-oxydase.

Le catabolisme peut s'arrêter là, et l'acide urique est éliminé. C'est le cas chez de nombreux animaux. Il faut toutefois noter que tout l'acide urique ainsi éliminé n'est pas nécessairement d'origine nucléo-protéique. Des processus de synthèse peuvent se superposer à la chaîne de dégradation que nous venons de rappeler, amenant la formation de certains des composés obtenus dans les étapes de

cette chaîne. On sait en particulier que l'acide urique représente parfois le terme final de tout le catabolisme azoté, protéidique et nucléoprotéidique, comme c'est le cas chez les Reptiles et les Oiseaux.

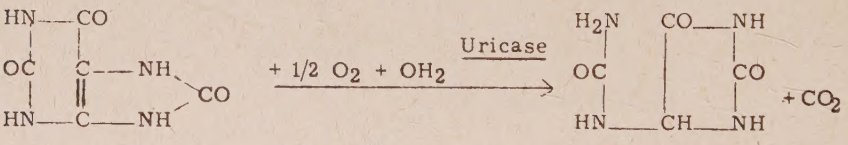
Chez les Insectes, l'acide urique est considéré aussi de façon générale comme le catabolite azoté caractéristique, prédominant, provenant certes du catabolisme des nucléoprotéides, mais aussi synthétisé à partir des déchets protéidiques. (Von Furth, 1903 ; Florkin et Duchateau, 1943).

Cependant, la trioxypurine peut n'être qu'une étape dans le catabolisme, étant transformée elle-même en corps plus simples. Simon (1904) a montré qu'une telle transformation peut s'effectuer, sous certaines conditions, grâce à des moyens purement chimiques ; on obtient alors la chaîne suivante de réactions :

Acide urique ⟶ Allantoïne ⟶ Acide allantoïque ⟶ Acide glyoxylique + Urée.

Des enzymes peuvent catalyser de telles transformations dans les organismes vivants.

La première est l'**Uricase,** qui effectuant une oxydation et une décarboxylation de l'acide urique, le transforme en *allantoïne.*



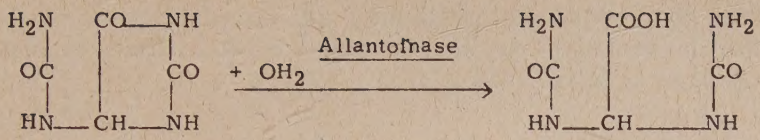

Acide urique — Allantoïne

L'existence de cette enzyme avait été entrevue par Stokvis (1860), puis par Sestini (1890), Gérard (1896), Cingolani (1903), Ulpiani (1903-1904). Les travaux de Schittenhelm (1905), Battelli et Stern (1909) et surtout de Wiechowski (1907, 1913) ont mis sa présence en évidence chez de nombreux Mammifères et ont précisé son mode d'action.

L'**Allantoïne** ainsi formée est elle-même le catabolite terminal chez diverses espèces animales : ainsi chez de nombreux Mammifères. C'est d'ailleurs dans cet Ordre qu'elle fut mise en évidence pour la première fois par Vauquelin en 1790 dans le liquide amniotique de la Vache.

L'enzyme suivante est l'**Allantoïnase.** Chez les animaux qui la possèdent, l'allantoïne subit l'addition d'une molécule d'eau, et se trouve transformée en *acide allantoïque.*

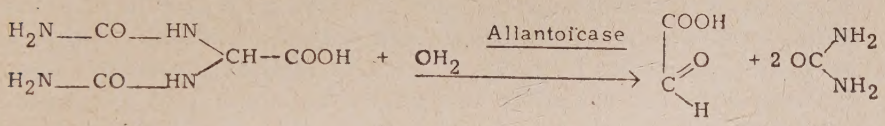
Nemec (1921), puis Przylecki (1925) avaient remarqué la disparition de l'allantoïne de certains milieux en expérience. Le mécanisme de cette action enzymatique fut éclairci par Fosse et Brunel (1929).




Allantoïne — Acide allantoïque

L'**Acide allantoïque** peut donc se rencontrer aussi chez les êtres vivants. Il fut mis en évidence d'abord chez les végétaux (Fosse, 1926). Il a été trouvé aussi chez des animaux : Mammifères (Mourot, 1938) ; Insectes (Rocco, 1936) ; Sipunculiens et Annélides (Florkin et Houet, 1939).

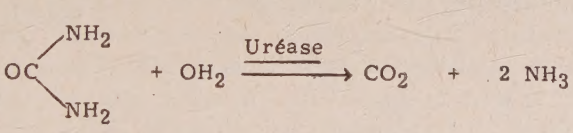
L'**Allantoïcase,** découverte par Krebs (1935) et par Brunel (1936) catalyse l'hydrolyse de l'acide allantoïque en *acide glyoxylique* et en *urée*.




Acide allantoïque — Acide glyoxylique — Urée

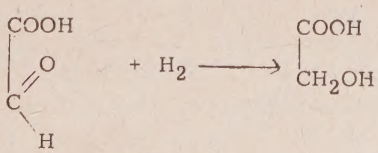
L'**Urée** est d'ailleurs également un catabolite important du métabolisme protéidique. L'**Acide glyoxylique** peut lui-même se former par suite de la désamination d'acides aminés.

L'urée peut subir l'action de l'**Uréase** qui la scinde en anhydride carbonique et ammoniac, selon la réaction bien connue :



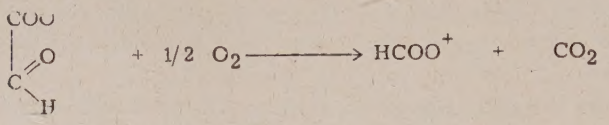

Le catabolisme de l'acide glyoxylique est moins connu. On admet qu'il peut suivre deux voies :

*a*) une réductase peut le transformer en acide glycolique (Zelitch Ochoa, 1953 ; Sissakian, 1959).




Acide glyoxylique — Acide glycolique.

*b*) l'ion glyoxylique peut aussi subir une décarboxylation oxydative qui le dédouble en ion formique et anhydride carbonique (Nakada et Sund, 1958).



Ainsi que nous l'avons déjà mentionné, certains catabolites d'origine protidique, tels que divers acides aminés, l'urée, et peut-être même l'acide glyoxylique, sont parfois repris dans des processus synthétiques aboutissant à des molécules plus complexes, et pouvant amener la formation, en particulier, d'acide urique.

Les physiologistes considèrent que de telles synthèses s'effectuent chez les Insectes, car ils estiment que chez ces animaux l'acide urique existe généralement en telles quantités qu'il ne peut provenir uniquement des nucléoprotéides. Cette formation d'acide urique, à partir des catabolites protidiques, est actuellement admise par tous. Il s'ensuit que l'on considère les Insectes comme inaptes à dégrader l'acide urique, car d'après la règle de Przylecki (1925) l'uricase et « l'uricoligase » (complexe enzymatique synthétisant l'acide urique à partir des catabolites protidiques) ne peuvent coexister dans le même organisme animal (cf. Baldwin, 1949 ; Needham, 1950).

Et cependant, l'uricase, puis l'allantoïnase ont été par la suite mises en évidence chez divers Insectes (cf. Leifert, 1935 ; Truskowski et Chajkinowa, 1935 ; Rocco, 1936-1938 ; Brown, 1938).

Si donc l'uricolyse peut ainsi exister chez les Insectes, il convient de préciser son importance, sa répartition. Doit-on la considérer comme une exception, ne concernant que quelques espèces, ou au contraire, est-elle la propriété d'un grand nombre, de certains ordres ? Quant aux Insectes qui en sont pourvus, jusqu'à quelle étape conduisent-ils la dégradation de l'acide urique ? Eliminent-ils de l'allantoïne, de l'acide allantoïque, ou des catabolites plus dégradés ?

Telles sont les questions auxquelles nous nous proposons de répondre dans ce travail. Nous rechercherons si nos sujets possèdent, en partie ou en totalité, les enzymes de la chaîne de l'uricolyse ; nous essayerons de caractériser chez eux et dans leurs excreta, l'acide urique, et les substances susceptibles d'en provenir par voie enzymatique, à savoir, les uréides glyoxyliques allantoïne et acide allantoïque, l'urée et l'ammoniaque.

Dans ce but, nous adopterons le plan ci-après :

# PLAN GÉNÉRAL

PREMIÈRE PARTIE : **MATÉRIEL ET TECHNIQUES**

Chapitre 1 : Matériel.

Chapitre 2 : Techniques.

SECONDE PARTIE : **LES ENZYMES DE L'URICOLYSE**

Chapitre 1 : L'Uricase.

Chapitre 2 : L'Allantoïnase.

Chapitre 3 : L'Allantoïcase.

Conclusion.

TROISIÈME PARTIE : **L'ACIDE URIQUE ET SES CATABOLITES**

Chapitre 1 : Des résultats et de leur valeur en fonction des méthodes.

Chapitre 2 : L'Acide Urique et les Uréides Glyoxyliques dans les tissus des Insectes.

Chapitre 3 : L'Acide Urique et les Uréides Glyoxyliques dans les excreta des Insectes.

Conclusion.

DISCUSSION GÉNÉRALE.

APPENDICE : Tableau général de distribution des enzymes de l'uricolyse et des catabolites correspondants.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.

TABLE DES MATIÈRES.

PREMIÈRE PARTIE

# MATÉRIEL ET TECHNIQUE

## I. — MATÉRIEL

### ORIGINE DU MATÉRIEL

Les Insectes utilisés dans ce travail proviennent pour la plupart de la région bretonne, capturés dans leurs biotopes naturels lors de nos déplacements. Certains d'entre eux ont été gardés vivants au Laboratoire pendant quelque temps ; quelques espèces y ont été élevées pendant tout leur cycle.

Nous avons eu aussi à notre disposition quelques exemplaires séchés provenant de régions montagneuses de France (Alpes, Pyrénées), ou envoyés de l'étranger (Guinée).

Nous avons récolté les *excreta* (1) des Insectes nourris au Laboratoire pendant une partie ou la totalité de leur cycle. Cette récolte est généralement très aisée, du moins chez la plupart des Phytophages. Ces Insectes émettent en effet de petites masses cylindriques, assez dures, et formées en grande partie de résidus alimentaires, mais comprenant aussi de petites quantités de déchets du métabolisme.

Certains Insectes émettent par contre des excreta très fluides ou à peu près liquides. Nous avons recueilli ces excreta sur papier-filtre.

Dans tous les cas, les excreta ont été séchés aussitôt après leur récolte, afin d'éviter toute décomposition des substances susceptibles d'y être recherchées.

Nous avons cherché à étudier le plus grand nombre possible

(1) En accord avec la plupart des auteurs actuels, nous désignons sous le terme d' « *excreta* » (pluriel du latin « *excretum* ») l'ensemble des substances éliminées, qui contiennent à la fois les déchets de la digestion et ceux du métabolisme général.

d'échantillons, pris dans tous les Ordres d'Insectes, afin de connaître, au moins de façon sommaire, le métabolisme de l'acide urique dans tout l'ensemble de la Classe.

Nous avons adopté la classification générale suivante :

*CLASSIFICATION GÉNÉRALE DES INSECTES ÉTUDIÉS*

| Sous-classes | Sections | Super-ordres | Ordres |
|---|---|---|---|
| APTÉRYGOTES | | | COLLEMBOLES |
| | | | THYSANOURES |
| PTÉRYGOTES | PALÉOPTÈRES | | ÉPHÉMÉROPTÈRES |
| | | | ODONATES |
| | POLYNÉOPTÈRES | BLATTOPTÉROIDES | DICTYOPTÈRES |
| | | | ISOPTÈRES |
| | | ORTHOPTÉROIDES | PLÉCOPTÈRES |
| | | | CHÉLEUTOPTÈRES |
| | | | ORTHOPTÈRES |
| | | | DERMAPTÈRES |
| | PARANÉOPTÈRES | HÉMIPTÉROIDES | HÉTÉROPTÈRES |
| | | | HOMOPTÈRES |
| | OLIGONÉOPTÈRES | COLÉOPTÉROIDES | COLÉOPTÈRES |
| | | HYMÉNOPTÉROIDES | HYMÉNOPTÈRES |
| | | NÉVROPTÉROIDES | MÉGALOPTÈRES |
| | | | PLANNIPENNES |
| | | MÉCOPTÉROIDES | DIPTÈRES |
| | | | MÉCOPTÈRES |
| | | | TRICHOPTÈRES |
| | | | LÉPIDOPTÈRES |

## TRAITEMENT DU MATÉRIEL UTILISÉ

### A. — Recherche et étude des enzymes

#### 1) *Recherche générale.*

La recherche qualitative des enzymes est effectuée sur les Insectes frais, aussitôt après leur capture. Eventuellement, les exemplaires au tube digestif chargé d'aliments sont gardés vivants au Laboratoire pendant le temps nécessaire pour s'en débarrasser. Cette recherche qualitative peut aussi être conduite sur des exemplaires séchés dans le vide sur chlorure de calcium.

Une première mesure de l'activité de ces enzymes peut avoir lieu sur ces échantillons frais. Nous donnerons en temps voulu les protocoles employés. Toutefois, nous faisons remarquer que les chiffres ainsi obtenus doivent être considérés seulement comme des indications sur les possibilités des espèces étudiées ; en aucun cas, il ne doit leur être attribué une valeur absolue, dont on puisse tirer quelque conclusion sur les propriétés des enzymes ainsi mises en évidence. Ces sujets n'étant pas desséchés, peuvent avoir chacun une teneur en eau qui lui soit propre, différente de celle des autres espèces ; en fait cette teneur est généralement voisine des 2/3 du poids total ; elle s'en écarte toutefois dans certains cas. De plus, ces recherches sont conduites dans des conditions expérimentales déduites des indications bibliographiques, mais dans l'ignorance des conditions optimales réelles chez les animaux étudiés.

#### 2) *Elaboration de poudres enzymatiques en vue de l'étude de quelques facteurs affectant l'action des enzymes*

En vue d'étudier l'influence de quelques facteurs sur l'activité des enzymes ainsi décelées, nous utilisons diverses préparations enzymatiques séchées, élaborées à partir des Insectes reconnus comme les mieux équipés en ces substances.

##### a - *Préparation d'une poudre enzymatique d'après les indications de Przylecki (1925) et Brunel (1949)*

Les Insectes, anesthésiés à l'éther, sont broyés très soigneusement en présence d'une quantité 2 à 4 fois supérieure de tampon

phosphate soude à pH 7,0, et après addition de quelques gouttes de toluène. La macération est laissée en contact pendant une heure trente à basse température, vers 2°, puis centrifugée à grande vitesse. La liqueur surnageante est recueillie et additionnée d'un volume 3 à 5 fois supérieur d'acétone pure glacée. Il se forme alors un précipité qui est rapidement centrifugé, lavé 3 fois à l'éther anhydre, et séché dans le vide sur chlorure de calcium desséché. On désignera par la suite cette poudre par le symbole $P_1$.

L'utilisation d'éthanol à 96° à la place d'acétone semble conduire, chez les Insectes, à des poudres sans activité enzymatique.

### b - *Préparation d'une poudre enzymatique d'après les indications de Baker (1939)*

Dans cette méthode, les Insectes sont séchés dans le vide sur chlorure de calcium desséché, puis réduits en poudre fine par broyage, et lavés à l'éther de pétrole pour éliminer les lipides. La poudre ainsi obtenue est finement tamisée pour éliminer les gros fragments encore restés. Elle sera désignée par le symbole $P_2$.

### c - *Autres préparations de poudres enzymatiques*

Enfin on peut, à partir des poudres $P_1$ et $P_2$, effectuer une nouvelle macération dans le tampon suivie d'une précipitation par l'acétone, et d'un traitement par l'éther. Les poudres ainsi obtenues sont désignées par $P_{11}$ ou $P_{21}$ selon qu'elles ont été effectuées à partir d'une poudre $P_1$ ou $P_2$.

Les poudres enzymatiques ainsi obtenues ne peuvent permettre que de préciser quelques points, en particulier de définir les conditions les plus favorables à l'action des enzymes étudiées, car elles restent très impures et ne sauraient permettre une étude approfondie de ces enzymes. La préparation d'enzymes à l'état pur nécessiterait des quantités très importantes d'Insectes des espèces retenues, quantités qu'il ne nous a pas été possible de réunir jusqu'à présent.

## B. — Recherche de l'acide urique et des autres catabolites

Les uréides, allantoïne, acide allantoïque, et l'urée, étant solubles, sont retrouvés dans les macérations d'Insectes effectuées en vue de la mise en évidence des enzymes uricolytiques. Nous avons pu les caractériser à partir de ces macérations à la fois par colorimétrie et par chromatographie sur papier.

Il peut arriver que l'acide urique se manifeste aussi dans ces macérations. On peut considérer qu'il s'agit là d'acide urique en

solution dans l'hémolymphe ou l'eau de constitution, car ce composé, s'il est concrétisé, ne peut être solubilisé au seul contact des solutions tampons utilisées.

Le dosage de l'acide urique et des uréides ne peut être effectué de façon valable que sur du matériel séché, totalement débarrassé de son eau, puis soigneusement pesé. Une bonne dessication est obtenue par séchage dans le vide, dans une cloche de grande dimension, en présence de chlorure de calcium desséché. Dans certains cas, ne concernant que des excreta, nous avons séché notre matériel dans une étuve à 40° environ. Cette technique est déconseillée par BRUNEL en ce qui concerne le matériel végétal, car elle est considérée comme susceptible de causer des pertes en acide allantoïque. Les excreta d'Insectes ainsi desséchés ne nous ont pas semblé subir de pertes en cet uréide. Avant le dosage, les dernières traces d'eau sont éliminées par chauffage à 100°, jusqu'à poids constant.

L'évaluation du poids des excreta fluides recueillis sur papier-filtre présente certaines difficultés. Nous n'ignorons pas en effet les erreurs pouvant affecter de telles évaluations. Le papier-filtre est toujours hygroscopique, et cela peut fausser considérablement les résultats. Nous avons pensé pouvoir tourner cet inconvénient en utilisant simultanément 2 fragments de papier-filtre, pesés au préalable, dont on a noté les différences de poids. On recueille les excreta sur l'un d'eux, on les sèche tous les deux, puis on les repèse. La nouvelle différence de poids ainsi obtenue, corrigée en tenant compte des poids initiaux, permet de connaître le poids des excreta recueillis. Il ne faut pas accorder à de telles évaluations une valeur absolue ; elles permettent seulement d'avoir un ordre de grandeur.

Une partie aliquote de ce matériel, dont le poids est connu avec la plus grande précision, est broyée finement et mise en suspension dans des solutions appropriées pour solubiliser les substances recherchées. Les uréides glyoxyliques se dissolvent à peu près immédiatement dans les solutions aqueuses utilisées. La solubilisation de l'acide urique est obtenue en le transformant en urate de lithium, relativement soluble. Nous utilisons dans ce but une solution saturée de carbonate de lithium (1 ml de cette solution contient environ 10 mg de sel dissous, capable de solubiliser 12 à 15 mg de trioxypurine).

En pratique, nous broyons le matériel à analyser en présence d'un excès de solution saturée de carbonate de lithium (4 ou 5 ml pour 100 mg) ; nous laissons le tout en contact pendant une dizaine de minutes en triturant soigneusement. On peut espérer faire ainsi passer en solution tout l'acide urique, ainsi que les uréides et l'urée ; on amène à un volume connu au moyen de solution tampon phosphate-soude de pH 7,0 ; on centrifuge et on filtre.

Lors d'analyses portant sur des Insectes, on peut être gêné par

la présence de quantités notables de lipides, et être obligé à une délipidation préalable.

Sur des parties aliquotes de la liqueur obtenue sont recherchés à la fois l'acide urique, l'allantoïne et l'acide allantoïque, grâce aux méthodes que nous indiquerons ultérieurement.

Les macérations élaborées en vue de la recherche des enzymes, ainsi que les solutions préparées pour le dosage de l'acide urique et des uréides peuvent aussi être utilisées pour la préparation de chromatogrammes sur papier. Cette méthode nous permettra de caractériser de nouveau ces divers catabolites. Elle indiquera éventuellement, en outre, la présence de l'urée.

La recherche de l'ammoniaque sera effectuée, de préférence, sur du matériel frais, la dessication pouvant amener des pertes en ce composé.

## II. — TECHNIQUES ANALYTIQUES

### TECHNIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

#### A. — Traitement des solutions à analyser

Avant tout dosage par les méthodes colorimétriques indiquées ci-après, les solutions doivent subir une défécation aussi parfaite que possible.

Brunel (1949) conseille de pratiquer ces défécations en ajoutant aux solutions à analyser, préalablement neutralisées, des quantités égales de solution aqueuse de tungstate de sodium à 10 % et d'acide sulfurique 2 N/3. Cette technique nous a donné dans de nombreux cas d'excellents résultats. Toutefois, il est nécessaire d'éviter soigneusement tout excès de tungstate lors des dosages en milieu très acide, comme celui que nous emploierons pour l'acide allantoïque. Il peut se former alors un précipité d'acide tungstique colloïdal qui empêche toute lecture au colorimètre. Aussi avons-nous obtenu d'excellentes défécations, lors de dosages portant sur des liqueurs peu chargées en matières protéiques, en employant seulement 1 ou 2 gouttes d'une solution de tungstate à 2 % en présence d'une goutte d'acide sulfurique 2 N/3. Le léger supplément d'acidité ainsi apporté ne gêne pas.

Vellas et Brunel (1960) ont indiqué récemment que l'on peut remplacer le tungstate de sodium par du métaphosphate de sodium, employé dans les mêmes proportions, en présence de quantités égales d'acide sulfurique 2 N/3. On évite de la sorte les inconvénients signalés ci-dessus, en cas d'excès de défécant.

Pour la recherche de l'acide allantoïque, la liqueur est acidifiée, de sorte à amener son titre en acidité à N/100. En général, cette acidification est évitée pour l'acide urique. Une dilution adéquate est effectuée pour que les dosages par absorption aient lieu dans les conditions les meilleures. Il est souvent nécessaire d'effectuer un essai préalable pour préciser cette dilution.

## B. — Réactions de caractérisation et de dosage

### 1) Acide urique

Nous avons utilisé deux méthodes pour le dosage de l'acide urique.

#### a) *Méthode colorimétrique de Buchanan, Christman et Block (1945)*

Elle est basée sur la réduction par l'acide urique du réactif arsénophosphotungstique de Benedict (1922), réduction amenant une coloration bleue d'autant plus intense que la liqueur à analyser est plus riche en trioxypurine.

Réactifs utilisés :

*Urée-cyanure de Christman et Ravwitch* (1932).

25 gr de CNNa pur et 50 gr de $CO_3Na_2$ anhydre sont dissous dans 400 ml d'eau distillée ; on chauffe un peu, si cela est nécessaire. Après solubilisation, on refroidit, puis on ajoute 75 gr d'urée. On laisse l'urée se dissoudre, on amène à 500 ml et on filtre. Cette solution se garde plusieurs mois.

*Réactif arsénophosphotungstique de Benedict* (1922).

100 gr de tungstate de sodium pur sont dissous dans 600 ml d'eau contenus dans un erlenmeyer de 1 litre. On ajoute alors 50 gr de pentoxyde d'arsenic pur, puis 25 ml d'acide phosphorique à 85 % et 20 ml d'acide chlorhydrique concentré. On fait bouillir pendant 20 minutes ; on refroidit ; on amène à 1 litre avec de l'eau distillée. Ce réactif se conserve indéfiniment.

Protocole du dosage :

La coloration bleue donnée par l'acide urique en présence des réactifs ci-dessus sera évaluée à l'électrophotomètre Meunier (écran 65). Une courbe étalon, construite au préalable, fera connaître la correspondance entre le chiffre lu à l'appareil et la quantité d'acide urique présente.

Pour construire cette courbe, on prépare une solution d'acide urique à 1 mg par ml, selon les indications données par Feitchmer et Wrenn (1955) : on place, dans un erlenmeyer de 200 ml, 200 mg d'acide urique très pur ; on ajoute 150 mg de carbonate de lithium dissous dans 100 ml d'eau distillée chauffée à 60° environ. On agite jusqu'à dissolution totale de l'acide urique ; on peut chauffer légèrement (jusqu'à 60°) si c'est nécessaire. On transvase ensuite dans une fiole jaugée de 200 ml ; on rince 3 fois l'erlenmeyer avec de petites quantités d'eau distillée que l'on ajoute à la liqueur ; puis on complète à 200 ml. Cette solution (solution 1), additionnée de quelques gouttes de chloroforme, peut être conservée à 4° pendant 2 à 3 semaines.

Elle sera diluée 10 fois avant emploi ; la liqueur obtenue (solution 2) contiendra donc 0,1 mg d'acide urique par ml.

De la solution 2 on va prendre des quantités variables allant de 0,2 ml à 2,5 ml (ce qui correspond à des quantités d'acide urique comprises entre 0,02 et 0,25 mg). On place ces prises dans des fioles jaugées de 50 ml ; on amène à 25 ml avec de l'eau distillée. On ajoute alors :

Solution d'urée-cyanure de Christman et Ravwitch .. 2,5 ml
Réactif de Benedict ..... 1 ml

On termine de remplir avec de l'eau distillée jusqu'au repère ; on agite et on laisse la coloration se développer pendant 30 minutes. Puis on mesure l'absorption à l'électrophotomètre à 650 mμ.

L'établissement de cette courbe nécessite une dizaine de points. Cette courbe suit la loi de Beer-Lambert, sauf pour les quantités inférieures à 0,05 mg. Elle ne passe pas par l'origine.

Du chiffre lu sur l'appareil sera retranché chaque fois la valeur de l'absorption d'un « à blanc », obtenu en utilisant la même quantité de liqueur à analyser, l'urée-cyanure, et la quantité nécessaire d'eau distillée pour arriver à 50 ml, mais sans réactif de Bénédict.

La liqueur inconnue à analyser est déféquée et diluée de façon convenable. On en prend alors quelques ml que l'on place dans une fiole jaugée de 50 ml et que l'on traite comme ci-dessus, lors de la mesure de l'absorption de quantités connues d'acide urique.

Il est nécessaire que cette quantité de liqueur à analyser ne contienne pas plus de 0,25 mg d'acide urique. Si elle dépasse cette teneur l'absorption est trop importante ; il faut alors recommencer la manipulation avec une prise moindre.

Une telle méthode présente toutefois un inconvénient important. D'autres substances sont susceptibles de réduire le réactif de Bénédict. Nous avons éliminé ces causes d'erreur en plaçant la liqueur considérée comme contenant de l'acide urique en présence d'uricase purifiée de Mammifères, dans des conditions telles qu'après un temps donné tout cet acide urique doive être oxydé. Si après cette opération, il reste encore une substance capable de réduire le réactif de Bénédict, on doit admettre qu'il s'agit là d'un autre composé.

Nous avons utilisé pour cela de l'uricase vendue par Worthington (U.S.A.). Cette uricase est diluée dans une solution tampon glycine-soude de pH 9,3 en raison de 50 mg pour 100 ml. 1 ml de la solution obtenue suffit pour détruire totalement 0,25 mg d'acide urique en 2 heures à 45°.

En pratiquant la réaction colorée décrite ci-dessus sur deux parties aliquotes de la liqueur à analyser, diluée de façon strictement égale, mais dont l'une a subi l'action de l'uricase, nous pouvons connaître sans risque d'erreur la quantité d'acide urique réellement présente.

### b) *Méthode spectrophotométrique*

La possession d'un spectrophotomètre avec équipement pour l'ultra-violet permet de doser la trioxypurine à 290 mμ selon le principe de la spectroscopie différentielle (Kalckar, 1947 ; Praetorius, 1948).

Dans cette méthode, on étalonne au préalable l'appareil comme dans le cas précédent au moyen de solutions d'acide urique de titre croissant (de 0,2 mg à 20 mg par litre).

Pour le dosage, on prend 2 parties aliquotes égales de la liqueur à analyser, déterminées pour permettre une évaluation de l'absorption dans les meilleures conditions. Sur l'une des prises, on fait agir une solution d'uricase, ainsi que lors de l'emploi de la méthode précédente ; puis on dilue également les deux prises, et après filtration, mais sans défécation, on mesure leur absorption. On soustrait de chacun des résultats un « à blanc » donnant soit l'absorption de l'eau distillée seule, soit l'absorption de la solution de l'uricase dans l'eau distillée.

Le protocole est donc défini comme suit :

Premières mesures :

| | $E_1$ | $T_1$ |
|---|---|---|
| Liqueur | 0,25 à 2 | 0 ml |
| Eau distillée : quantité suffisante pour .. | 20 | 20 ml |

L'absorption de $E_1$, moins celle de $T_1$, est désignée par $A_1$.

Secondes mesures :

| | $E_2$ | $T_2$ |
|---|---|---|
| Liqueur | 0,25 à 2 | 0 ml |
| Solution d'uricase | 1 | 1 ml |
| Tampon glycine soude | 10 | 10 ml |
| Toluène | 2 | 2 gttes |

On laisse 2 heures à 45°,

On ajoute :

| | |
|---|---|
| Eau distillée : quantité suffisante pour .. | 20 — 20 ml |

L'absorption de $E_2$ diminuée de celle de $T_2$ est désignée par $A_2$.

La différence $A_1 - A_2$ donne l'absorption due à la quantité d'acide urique réellement présente dans la liqueur à analyser et connue par référence à la courbe étalon.

Cette dernière méthode est considérée actuellement comme la plus sûre et la plus fidèle, malgré les critiques de Alper et Seitchik (1957).

## 2) Acide glyoxylique

L'acide glyoxylique est recherché grâce à la réaction rouge qu'il donne avec le réactif phényl-hydrazinique de Schryver.

La liqueur supposée le contenir est déféquée, filtrée ou centrifugée, puis diluée s'il y a lieu.

On prend :

| | |
|---|---|
| Liqueur | 2 ml |
| Solution aqueuse de chlorhydrate de phényl-hydrazine à 2 % .. | 0,1 ml soit 2 gttes |

La liqueur est placée directement au fond d'un tube à essai en pyrex au moyen d'une pipette à 2 traits dont la pointe touche la paroi interne du tube à 2 cm du fond. On y laisse ensuite tomber directement les 2 gouttes de la solution de phényl-hydrazine.

On abandonne dans l'eau glacée pendant 3 minutes; puis on ajoute :

| | |
|---|---|
| Acide chlorhydrique fumant ..... | 1,2 ml |
| Solution aqueuse de ferricyanure de potassium à 5 % ..... | 0,1 ml soit 2 gttes |

La coloration rouge caractéristique se développe immédiatement en cas de présence d'acide glyoxylique.

L'application de cette réaction à l'acide glyoxylique est due à Fosse (1924) ; elle est actuellement connue sous le nom de « réaction de Schryver-Fosse ».

La courbe étalon de référence qui sera établie pour l'acide allantoïque permettra éventuellement de connaître la teneur en acide glyoxylique. Il suffira pour cela de multiplier le résultat obtenu par :

$$\frac{\text{poids moléculaire de l'acide glyoxylique}}{\text{poids moléculaire de l'acide allantoïque}} = \frac{74}{176} = 0{,}42$$

### 3) Acide allantoïque

L'acide allantoïque possède la propriété de se scinder en acide glyoxylique et en urée en milieu acide. En présence d'acides minéraux dilués et à l'ébullition la transformation est totale. Cette propriété a permis d'appliquer à sa caractérisation et à son dosage la réaction phényl-hydrazinique de Schryver-Fosse (Fosse, 1928 ; Brunel, 1936, 1949 ; Vellas et Brunel, 1960).

La liqueur à analyser est déféquée, diluée en fonction de la teneur probable en acide allantoïque et acidifiée avec ClH N de sorte à amener son degré d'acidité entre N/100 et N/1 000. Après centrifugation et filtration, on prend :

| | |
|---|---|
| Liqueur ..... | 2 ml |
| Solution aqueuse de chlorhydrate de phényl-hydrazine à 2 % .. | 0,1 ml soit 2 gttes |

On opère jusque là comme dans le cas de la recherche de l'acide glyoxylique.

On porte alors le tout au bain-marie bouillant pendant 2 minutes ; on refroidit dans l'eau glacée pendant 1 minute ; puis on ajoute :

| | |
|---|---|
| Acide chlorhydrique fumant ..... | 1,2 ml |
| Solution aqueuse de ferricyanure de potassium à 5 % ..... | 0,1 ml soit 2 gttes |

La coloration rouge due à la réaction de Schryver-Fosse se développe immédiatement, si la liqueur de départ contient de l'acide allantoïque ; elle se conserve assez longtemps.

Cette réaction permet de connaître la quantité d'acide allantoïque contenue dans les substrats à analyser. On mesure pour cela, au moyen d'un colorimètre, l'absorption causée par cette solution colorée sur le trajet d'un faisceau lumineux. L'intensité de la coloration est en effet fonction de la concentration en uréide. Nous avons utilisé pour cela l'électrophotomètre Meunier, à la longueur d'onde de 490 mμ ; (la longueur d'onde optimum indiquée est de 520 mμ ; l'appareil à notre disposition ne la possédait pas). Nous avons établi la courbe étalon de l'absorption à la longueur d'onde choisie, selon le protocole décrit par Brunel. Nous avons utilisé pour cela des solutions d'acide allantoïque de titre variable, titre ne dépassant guère 8 ml par litre, afin de travailler uniquement dans les limites de la sensibilité maximum de l'appareil. Nous avons ainsi connu l'absorption d'une dizaine de solutions dont le titre en acide allantoïque s'étageait entre 0,5 mg et 8 mg par litre. Le remplacement de la phényl-hydrazine par 0,1 ml d'eau distillée donne l'absorption de l' « à blanc », qui est mesurée chaque fois et soustraite du chiffre du dosage proprement dit. Nous avons alors tracé la courbe correspondant à cette absorption en fonction de la concentration. La courbe ainsi obtenue suit la loi de Beer-Lambert dans les limites choisies de concentration en uréide ; c'est donc une droite ; tout au plus montre-t-elle un léger infléchissement pour la concentration la plus élevée.

L'établissement de cette courbe permet par retour de connaître les quantités d'acide allantoïque contenues dans les liqueurs à analyser. Soit donc :

$n$ : le nombre de ml de cette liqueur,
$t$ : la concentration par litre correspondant au chiffre lu à l'électrophotomètre.

— la quantité d'acide allantoïque contenue dans la liqueur à analyser est donnée par : $t \,.\, n/1\,000$.

### 4) Allantoïne

L'allantoïne a été recherchée après sa transformation en acide allantoïque grâce à l'allantoïnase de Soja, en présence de cyanure de potassium pour inhiber l'uricase du Soja. Le principe de cette méthode est dû à Fosse et Brunel (1929). Nous avons suivi le protocole mis au point par Brunel (1949). Toutefois, il nous est arrivé de remplacer l'allantoïnase élaborée selon les indications de cet auteur par des extraits lyophylisés de Soja en vente dans le commerce (uréase lyophylisée Byo-Lyon). Ces préparations contiennent en effet une allantoïnase très active, capable de transformer à peu

près quantitativement l'allantoïne en acide allantoïque. Il faut reconnaître néanmoins que la transformation n'est pas toujours totale, le rendement réel restant parfois aux environs de 95 %. Il peut d'ailleurs en être de même avec l'allantoïnase élaborée selon la technique de BRUNEL. Nous accepterons donc les chiffres obtenus, sachant qu'ils peuvent être parfois légèrement inférieurs à la teneur réelle en allantoïne.

Pour des liqueurs dont la teneur en allantoïne ne dépasse pas 0,25 mg par ml, nous préparons des milieux comprenant :

| | |
|---|---|
| Liqueur à analyser ..... | 2 ml |
| Uréase reconstituée ..... | 0,2 ml |
| CNK ..... | 2 mg |

Nous laissons le tout au bain-marie à 38° pendant 14 heures ; puis la liqueur est déféquée, diluée, et l'acide allantoïque est recherché par la méthode ordinaire et dosé à l'électrophotomètre.

Les résultats obtenus, multipliés par le rapport :

$$\frac{\text{poids moléculaire de l'acide allantoïque}}{\text{poids moléculaire de l'allantoïne}} = \frac{176}{158} = 0{,}8977$$

donnent la teneur en allantoïne.

### 5) Ammoniaque

La recherche qualitative de l'ammoniaque est effectuée selon la méthode classique :

Dans un tube à essai on place le matériel à examiner additionné de solution fortement alcaline (NaOH N). On chauffe au bain-marie à l'ébullition, et on caractérise le dégagement d'ammoniaque grâce au bleuissement d'un papier tournesol rouge humide recouvrant le sommet du tube.

Lors de recherches d'ammoniaque sur les Insectes eux-mêmes, nous nous sommes demandé si la forte alcalinité de la soude n'est pas susceptible d'amener une néo-formation de $NH_3$ aux dépens de combinaisons organiques azotées, et pour éviter cet écueil, nous avons employé une solution saturée de carbonate de lithium, dont le caractère alcalin est beaucoup plus faible.

Le dosage précis de l'ammoniaque présente dans notre matériel ou formée par suite d'une décomposition de l'urée grâce à l'uréase a été effectuée au moyen de l'appareil de Yovanovitch, selon la technique décrite par BRUNEL (1949). Dans cette méthode, on déplace l'ammoniaque par une solution faiblement alcaline, la solution saturée de carbonate de lithium, et on l'entraîne à la vapeur d'eau, sous pression réduite, à la température de 40°-50°, grâce au vide obtenu par une trompe à eau, puis on la retient dans une solution titrée d'acide sulfurique.

*Remarque.* — Nous avons dans quelques cas recherché l'*urée* sous forme d'ammoniaque après action d'uréase de Soja. Par suite de la très faible teneur de notre matériel en carbamide, nous n'avons pu utiliser la méthode au xanthydrol de Fosse (1928). C'est surtout au moyen de la chromatographie sur papier que nous mettons ce corps en évidence.

## C. — Protocoles utilisés

### 1) Recherche et étude des enzymes

Les enzymes de la chaîne de l'uricolyse sont mises en évidence en faisant agir, dans des conditions bien définies, les macérations d'Insectes ou les poudres enzymatiques élaborées, sur des solutions des substrats susceptibles d'être transformés.

Lors de la recherche ou de l'étude de chaque enzyme, des témoins (solutions de substrats seuls, ou extraits d'Insectes sans substrat), permettent d'apporter toutes corrections nécessaires.

Nous allons indiquer ici seulement les principes des protocoles utilisés, car ces protocoles doivent être adaptés de façon précise selon la nature des recherches entreprises. Nous pouvons préciser cependant que pour les recherches qualitatives les macérations contiennent environ de 2 à 5 % de poids frais, ou 1 % de poids sec.

**Uricase** : L'uricase est recherchée en mettant en présence de l'acide urique (dissous à l'état de diurate de sodium) et les extraits des Insectes, en solution tamponnée à pH 8,0. On laisse 24 heures à 38°. Puis immédiatement si l'Insecte étudié possède lui-même de l'allantoïnase, ou après action d'allantoïnase de Soja dans le cas contraire, on recherche l'acide allantoïque dont la formation éventuelle démontre la présence d'uricase dans le matériel étudié.

Pour une étude plus précise de l'enzyme, nous pouvons rechercher la quantité d'acide urique encore présente dans le milieu à la fin de l'expérience, grâce à l'une des méthodes décrites précédemment (au moyen du réactif de Bénédict ou par spectrophotométrie ultra-violette). Connaissant l'apport en acide urique par les tissus du sujet et la quantité mise expérimentalement dans le milieu (sous forme de diurate de lithium), nous observons la disparition d'une partie plus ou moins importante de cet acide urique, selon l'activité de l'uricase présente.

**Allantoïnase** : Pour la mise en évidence de cette enzyme, on place au bain-marie, à 38°, une solution tamponnée (pH 7,3) contenant l'extrait d'Insecte et l'allantoïne. Après 1 heure, si le matériel expé-

rimenté contient de l'allantoïnase, on met en évidence dans ce milieu l'acide allantoïque formé.

**Allantoïcase :** Cette enzyme est recherchée de façon systématique en faisant agir un extrait d'Insecte sur une solution tamponnée (pH 7,1) d'allantoate de potassium, et en cherchant à caractériser l'acide glyoxylique à la fin de l'expérience.

L'intervention d'un nouveau processus enzymatique amenant la destruction de l'acide glyoxylique formé et sa disparition du milieu expérimental oblige à ajouter à ce milieu du chlorhydrate de phénylhydrazine, qui bloque l'acide glyoxylique au fur et à mesure de sa formation, et l'empêche de disparaître.

**Uréase :** Dans quelques cas, nous recherchons aussi l'uréase.

Des recherches qualitatives, basées sur le bleuissement d'un papier tournesol rouge placé dans l'atmosphère du récipient contenant de l'urée et une macération d'Insectes dans l'eau distillée, permettent de reconnaître éventuellement la présence de l'enzyme.

Dans le cas où la manipulation précédente a donné un résultat positif, l'activité de l'uréase est connue en mesurant la quantité d'ammoniaque formée, grâce à la méthode de Yovanovitch.

### 2) Recherche de l'acide urique et des uréides glyoxyliques

L'acide urique et les uréides glyoxyliques (allantoïne, acide allantoïque) doivent être recherchés chez les Insectes et dans leurs excreta. Dans les deux cas, le protocole est le même.

La matériel à analyser est totalement séché, pesé avec précision, délipidé s'il y a lieu, puis broyé dans un petit mortier en présence de quelques ml de solution saturée de carbonate de lithium. Après quelques minutes de contact, le tout est transvasé dans un récipient jaugé, et au moyen de solution tampon à pH 7,0, on rince 3 fois le mortier, on ajoute à la suspension obtenue, et on complète jusqu'au trait de jauge ; on agite pour homogénéiser, on centrifuge et on filtre.

De la liqueur obtenue, on fait quatre parts. Deux d'entre elles sont utilisées pour la recherche de l'acide urique, soit par colorimétrie, soit par spectrophotométrie. La première est diluée de façon à permettre la lecture de l'absorption dans les conditions optimales de sensibilité. La seconde est traitée de la même façon, subit les mêmes dilutions, mais après avoir été incubée en présence d'uricase, selon le protocole déjà indiqué. Rappelons que 1 ml de la solution d'uricase utilisée détruit totalement 0,25 mg d'acide urique dans les conditions de l'expérience (liqueur et uricase étant additionnées de 10 ml de solution tampon glycine-soude de Praetorius à pH 9,3 et placées à 45° pendant 2 heures). Afin de travailler avec le maxi-

mum de sécurité, nous évitons de placer plus de 0,1 mg de la substance supposée être de l'acide urique en contact de 1 ml de la solution d'enzyme. Nous avons déjà indiqué que, quelle que soit la méthode employée, des « à blanc » sont effectués, afin d'apporter toutes corrections nécessaires.

Les deux autres fractions de la liqueur sont utilisées pour la recherche de l'acide allantoïque et de l'allantoïne. La caractérisation de l'acide allantoïque peut être effectuée immédiatement après défécation, acidification, et dilution appropriée. La fraction destinée à la mise en évidence de l'allantoïne est incubée en présence d'allantoïnase de Soja et de cyanure de potassium. On recherche ensuite de nouveau la quantité d'acide allantoïque présente. Si le chiffre obtenu à ce second dosage est supérieur au précédent, on conclut à la présence d'allantoïne dans le sujet étudié. La différence entre ces deux résultats, multipliée par 0,8977, permet de connaître la teneur réelle en cet uréide.

Si les recherches portent sur des Insectes, il faut se souvenir que les sujets examinés peuvent contenir les enzymes uricase et allantoïnase, et qu'il est alors nécessaire d'effectuer le plus rapidement possible certaines manipulations. C'est pourquoi, dès que la liqueur a été obtenue, on prélève immédiatement trois des fractions nécessaires. L'une d'elles est diluée, en vue de la première mesure d'absorption pour connaître le taux en acide urique ; une seconde est additionnée de cyanure de potassium pour inhiber l'uricase de l'Insecte (ultérieurement elle recevra l'allantoïnase de Soja) ; la troisième est acidifiée et défléquée en vue de la recherche de l'acide allantoïque.

Tous les milieux placés en incubation au bain-marie, que ce soit pour la recherche ou l'étude des enzymes, que ce soit pour la mise en évidence de l'acide urique ou de l'allantoïne, sont additionnés de quelques gouttes de toluène, afin d'éviter tout développement de microbes.

## CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER

### A. — Généralités

#### 1) Principes

L'essor de la chromatographie sur papier est dû à Condsen, Gordon et Martin (1944) ; c'est une méthode analytique qui permet de déceler des quantités très faibles de substances (quelques gammas, dans certains cas). Elle a d'abord été utilisée dans la recherche des acides aminés. Actuellement son champ d'application est très vaste, et conquiert peu à peu tous les domaines de la chimie analytique.

C'est une méthode devenue classique, qui a fait l'objet d'un grand nombre de mémoires. Elle est exposée en détail dans plusieurs traités : Block, Durrum et Zweig, 1955 ; Lederer, 1957, 1960 ; Brimley et Barrett, 1956 ; Lacourt, 1956 ; Rauen, 1956 ; Desnuelles, 1959, etc... Nous en rappelons brièvement le principe.

Les substances à caractériser sont déposées sur une ligne tracée à l'extrémité d'une bande de papier-filtre spécialement choisi. Ce papier-filtre est ensuite placé dans une enceinte close, à l'atmosphère saturée grâce à l'évaporation d'un liquide, puis irrigué avec un solvant adéquat, qui se déplaçant lentement va entraîner les substances placées sur la ligne de départ, plus ou moins loin, selon le coefficient de solubilité de ces substances dans le solvant choisi. Quand ce solvant, ayant parcouru presque toute la feuille de papier-filtre, est arrivé à une petite distance de l'extrémité opposée, on arrête le chromatogramme, on fait sécher, on élimine complètement le solvant, puis on pulvérise sur le papier-filtre un révélateur approprié, capable de réagir avec les substances à caractériser en donnant des réactions colorées : le chromatogramme ainsi révélé montre alors une série de taches dont la position et la couleur sont caractéristiques de substances bien définies.

Dans la pratique, certaines conditions doivent être remplies pour obtenir un chromatogramme valable.

Il faut employer un papier-filtre qui permette un écoulement convenable, ni trop lent, ni trop rapide, du solvant choisi. Il en existe un grand choix, chacun d'eux étant caractérisé entre autres par sa structure plus ou moins dense. Le plus utilisé est le Whatman n° 1 ; c'est celui que nous emploierons.

Le solvant est le plus souvent un mélange de plusieurs liquides. Dans certains cas, les liquides choisis se mélangent de façon complète : c'est la chromatographie à une seule phase liquide. La même solution est alors employée pour saturer l'atmosphère du récipient utilisé et pour faire courir le chromatogramme. Dans d'autres cas, les liquides utilisés ne se mélangent pas de façon complète ; ils forment alors deux couches, chacune étant composée de l'un des solvants saturé de l'autre. On utilise ainsi un solvant organique en présence d'une solution aqueuse. Les deux liquides sont mélangés intimement dans une ampoule à décanter ; on obtient une phase aqueuse saturée de solvant organique, ce sera la phase stationnaire, dont les vapeurs satureront l'atmosphère dans laquelle se déroulera le chromatogramme ; l'autre couche, formée de solvant organique saturé de solution aqueuse, fournira la phase mobile, avec laquelle sera irrigué le papier-filtre.

Il est nécessaire d'effectuer le chromatogramme à une température constante, préalablement choisie, telle qu'elle permette un écoulement régulier et pas trop rapide du solvant, et qu'elle permette d'assurer sa stabilité, évitant sa démixion, en particulier dans la chromatographie à deux phases liquides.

La chromatographie ainsi définie est dite monodimensionnelle. Nous n'emploierons que celle-là. Dans certains cas, après avoir développé le chromatogramme, on le sèche, puis on l'irrigue avec le même solvant ou avec un autre, dans un sens perpendiculaire au premier. A partir d'un spot de départ unique, on obtient alors une dispersion des substances recherchées sur toute la surface de la feuille de papier. C'est la chromatographie bi-dimensionnelle, qui peut présenter un intérêt important dans la recherche de substances très voisines les unes des autres.

Les substances ainsi mises en évidence seront caractérisées par leur Rf. Le Rf est le rapport de la distance de la tache depuis la ligne initiale sur la distance totale parcourue par le solvant à partir de cette même ligne. Le Rf est une valeur caractéristique d'une substance pour des

chromatogrammes développés dans des conditions bien précises. D'après Zimmerman (1953) (rapporté par Block, Durrum et Zweig, 1955), cette valeur dépend :

— de la composition de la phase mobile,
— du choix du papier,
— de la direction des fibres du papier,
— du mode de développement (ascendant, descendant, ou autre),
— de la longueur de la feuille de papier utilisée,
— de la distance du solvant de la ligne de départ,
— de la concentration des substances à caractériser,
— de la présence de substances étrangères,
— de la température du développement.

De légères variations dans les conditions expérimentales pourront donc influer sur la valeur du Rf. Plutôt que de se référer à une valeur fixe, préétablie, il vaut mieux effectuer sur chaque chromatogramme des spots de comparaison avec des substances pures, et comparer l'emplacement des taches après révélation.

## 2) Application à la recherche de l'acide urique, des uréides et de l'urée

La chromatographie sur papier peut permettre la mise en évidence des substances recherchées ici, à savoir l'acide urique, les uréides glyoxyliques et l'urée.

### *Acide urique*

L'acide urique a déjà été recherché par chromatographie. Les solvants employés sont des mélanges à base d'alcools (méthanol, éthanol, butanol, alcool amylique, phénol). Lors de la révélation, l'acide urique est mis en évidence par trempage dans une solution de nitrate d'argent ammoniacal (Dent, 1947), et apparaît sous forme de taches noires, ou par pulvérisation d'une solution de nitrate mercurique, suivie d'un lavage abondant, puis d'une exposition à des vapeurs sulfhydriques ; on obtient encore des taches noires [méthode mise au point pour tous les composés puriques par Vischer et Chargaff (1947), et adoptée pour l'acide urique par Schindler (1950)]. Dickstein, Bergmann et Chaimovitz (1956) pulvérisent sur le chromatogramme une solution d'acétate mercurique à 0,25 % dans l'éthanol à 95°, puis après séchage, une solution de diphénylcarbazone à 0,05 % dans l'éthanol à 95°. L'acide urique se manifeste alors en formant des taches rouges.

Nous allons rappeler en un tableau les méthodes ainsi employées :

| Auteurs | Solvants | Révélateurs | Papier | Rf |
|---|---|---|---|---|
| Dent, 1947 ..... | ——— | $NO_3Ag$ ammoniacal à 1 % | —— | — |
| Markham et Smith, 1949 ..... | Butanol/eau | Spectroscopie UV | Whatman n° 1 | 0,01 |
| | Butanol/eau/ac. formique | *id.* | *id.* | 0,14 |
| | Alcool amylique/eau/ac. formique. | *id.* | *id.* | 0,06 |
| Schindler, 1950 ..... | Phénol/eau | Nitrate mercurique, $H_2S$ | LS 16 | 0,24 |
| | | | 595 | 0,15 |
| Bode et Hubener, 1952 ..... | Butanol/ac. formique/eau | Sulfate ferri-ammoniacal + chlorhydrate de o-phénantrolème. | —— | 0,18 |
| Osteux et Laturaze, 1952 ..... | Butanol/eau/ac. acétique | ——— | Whatman n° 3 | 0,07 |
| | Ethanol/ammoniaque/eau | ——— | *id.* | 0,83 |
| Yamafugi, Eto, Yoshihara, 1956 ..... | Acétone/butanol/eau | Eosine | *id.* | 0,17 |
| | Butanol/ac. acétique/eau | *id.* | *id.* | 0,40 |
| Dickstein, Bergmann, Chaimovitz, 1956. | Ethanol/ac. acétique/eau | Acétate mercurique + diphenyl-carbazone | Whatman n° 1 | 0,23 |
| | Ethanol/pyridine/eau | *id.* | *id.* | 0,31 |
| | Pyridine/eau | *id.* | *id.* | 0,28 |
| Nordmann R. et Coll., 1957 ..... | Ethanol/ammoniaque/eau | Nitrate mercurique, $H_2S$ | Whatman n° 1 | 0,20 |
| | Propanol/eucalyptol/ac. formique/eau (traces) | *id.* | *id.* | 0,10 |
| Terzian, Irreverre, Stahler, 1957 .... | Butanol tertiaire/ac. formique/eau. | ——— | —— | 0,17 |
| Nelson, 1958 ..... | Butanol/diéthylène-glycol/eau. | Nitrate mercurique, $H_2S$ | —— | — |

### *Uréides glyoxyliques et urée*

L'allantoïne a été recherchée comme constituant de l'urine par Williams (1951) et par Makisumi (1952). Leurs résultats sont rapportés par Block, Durrum et Zweig. Les solvants sont à base de phénol, de butanol ou d'acide isobutyrique. La révélation est obtenue grâce au réactif phénol-hypochlorite : on pulvérise une solution de phénol à 5 % dans l'éthanol 95° ; puis, après séchage, une solution d'hypochlorite de sodium à 5,25 %. L'allantoïne apparaît sous forme de taches vertes.

L'acide allantoïque a été recherché dans les plantes par Reuter et Wolffgang (1954), et révélé à l'aide du réactif d'Erlich.

L'urée a été recherchée en même temps que l'allantoïne par Williams et Makisumi, et révélée de la même façon. Ce composé donne aussi un spot bleu si on humidifie le chromatogramme avec une solution alcoolique d'acide phosphomolybdique à 10 %. (Kritchevsky, 1952, cité par Block et coll.). La carbamide peut encore être révélée grâce à l'emploi d'une solution de nitrate mercurique, suivie de NaOH 2N. On obtient des spots incolores sur fonds gris... (Dent, 1947).

Allantoïne, acide allantoïque et urée peuvent encore être mis en évidence sur papier filtre par pulvérisation de réactif d'Erlich (0,5 gr de p-diméthylaminobenzaldéhyde dans 50 ml d'éthanol 95° + 5 ml acide chlorhydrique concentré) (technique indiquée par Zimmerman, 1956, à propos de la révélation d'électrophorégrammes). Leur emplacement est alors signalé par des taches jaunes sur fond blanc.

## B. — Protocoles adoptés

### 1) Solvants employés

Nous avons essayé un certain nombre de solvants, cherchant à mettre en évidence à la fois l'acide urique, les uréides glyoxyliques et l'urée. Nous avons expérimenté les mélanges butanol/ammoniaque/eau, alcool amylique tertiaire/ammoniaque/eau, mais les avons abandonnés car ni l'acide urique, ni les uréides n'étaient entraînés ; seule l'urée accusait une migration appréciable. Nous avons également abandonné les mélanges éthanol/butanol/eau et acétone/butanol/eau, qui ne fournissent qu'une seule phase, mais avec lesquels nous n'avons pas obtenu de résultats constants.

Le principal solvant retenu est le phénol. Nous l'avons employé après saturation avec une solution aqueuse contenant 6,3 % de citrate de sodium et 3,7 % de phosphate monosodique.

Le phénol du commerce est souvent coloré en brun-rougeâtre par des résines provenant de son oxydation. Ces substances pouvant gêner, il est nécessaire de les éliminer. Dans ce but, nous avons distillé notre phénol en entraînant ses vapeurs à la trompe à vide, après l'avoir additionné de tournure d'aluminium (0,1 %) et de bicarbonate de sodium (0,05 %) selon le protocole indiqué par Rauen. Au moment de l'emploi, le phénol, saturé de solution

aqueuse, est additionné de 0,1 % de cupron (α-benzoïnoxime), qui limite, dans une certaine mesure, son oxydation.

Ce solvant a pour nous l'avantage de nous permettre de développer simultanément un chromatogramme pour la recherche de l'acide urique et un chromatogramme pour la recherche des uréides glyoxyliques et de l'urée.

Cependant, dans quelques cas, voulant avoir une confirmation des résultats obtenus avec le phénol relativement à la présence de l'urée, et craignant que la carbamide ne se soit formée spontanément à partir de l'acide allantoïque par suite de l'acidité du solvant, nous avons utilisé un solvant très alcalin, le butanol ammoniacal, ainsi composé :

| | |
|---|---|
| Butanol normal ..... | 270 ml |
| Eau distillée ..... | 178 ml |
| Ammoniaque concentrée ..... | 72 ml |

Le tout est soigneusement mélangé dans une ampoule à décanter. Le mélange se sépare en 2 couches, l'une, inférieure, formée d'eau ammoniacale saturée de butanol, sera la phase stationnaire ; l'autre, comprenant le butanol saturé d'ammoniaque et d'eau, fournira la phase mobile .

### 2) Préparation des chromatogrammes

Pour opérer, nous avons employé chaque fois 1/2 feuille de papier-filtre (Whatman n° 1) découpée dans le sens de la largeur. A 3 cm de l'une des extrémités, nous traçons au crayon une ligne sur laquelle seront déposées les liqueurs à analyser. Sur cette ligne, en des points distants de 2 cm, sont déposées des microgouttes (de 2 $mm^3$ environ) des macérations d'Insectes ou des liqueurs obtenues par dilution de leurs excreta. A une des extrémités de cette ligne, sur 3 points écartés de 1,5 cm, sont déposées les liqueurs de référence.

Lors de la révélation du chromatogramme, les taches n'apparaissent que si un minimum de substance est contenu dans le spot de départ. C'est pourquoi, dans la plupart des cas, nous avons dû déposer plusieurs microgouttes sur les points choisis. Entre l'arrivée de chacune d'elles, le papier filtré est séché, ce séchage étant activé par un léger chauffage ou par pulsation d'air chaud. Les spots de référence contiennent entre 6 et 10 gammas ; ils sont obtenus en déposant 3 à 5 microgouttes de 2 $mm^3$ de solution à 1 ‰. En ce qui concerne les liqueurs à analyser, nous déposons en général 5 microgouttes des macérations à 1/5e, 10 de celles à 1/10e, et 20 de celles à 1/20e. Quant aux liqueurs obtenues par dilution des excreta, la quantité utilisée dépend de leur teneur (calculée au préalable par les autres méthodes).

### a - *Recherche de l'acide urique*

Sur l'extrémité gauche de la ligne sur laquelle seront déposées les liqueurs à analyser sont réservés 3 points, distants de 1,5 cm, sur lesquels seront placées 5 microgouttes de 2 mm³ de liqueurs contenant 1 ‰ d'acide urique sous forme de diurate de lithium, de sodium, d'ammonium. Nous avons déjà indiqué comment est obtenue la solution d'urate de lithium. On obtient de façon analogue l'urate de sodium. L'urate d'ammonium est beaucoup plus difficilement soluble, et son obtention nécessite un autre procédé.

Pour le préparer, nous sommes parti de la solution déjà obtenue d'urate de lithium. Nous avons précipité l'acide urique sous forme d'urate mercurique grâce à l'addition de solution d'acétate mercurique. Le précipité est centrifugé, lavé, puis dissocié dans une petite quantité d'eau distillée. On y fait alors parvenir un courant d'hydrogène sulfuré qui dissocie l'acétate mercurique, précipite le mercure sous forme de sulfure, et remet l'acide urique en liberté. On chasse ensuite l'hydrogène sulfuré par un courant d'air, on alcalinise la solution au moyen d'ammoniaque en excès, puis on filtre. La solution obtenue contient l'urate d'ammonium. Il convient de l'employer immédiatement car elle est instable, et l'acide urique ne tarde pas à précipiter.

A la suite des urates, sont déposées les liqueurs à analyser, de la façon indiquée précédemment. Ces liqueurs sont soit les macérations utilisées lors de la recherche des enzymes uricolytiques, soit des solutions préparées pour la recherche de l'acide urique et des uréides.

### b - *Recherche des uréides glyoxyliques et de l'urée*

La recherche des uréides glyoxyliques et de l'urée a été effectuée simultanément. Le papier-filtre a été préparé de la même façon que lors de la recherche de l'acide urique. A 3 cm d'une extrémité de chaque demi-feuille, on trace au crayon la ligne de dépôt des solutions à analyser. A l'extrémité gauche, en 3 points distants de 1,5 cm, on dépose séparément 10 gammas d'allantoïne, 10 gammas d'acide allantoïque, et 6 gammas d'urée. A la suite, sont déposées les micro-gouttes des solutions à analyser, dans les proportions déjà indiquées.

Pour la recherche de l'urée sur chromatogrammes développés au butanol ammoniacal, nous utilisons de petites bandes de papier-filtre de 30 cm sur 6 cm. A 3 cm d'une des extrémités, on trace une ligne sur laquelle sont choisis 3 points distants de 1,5 cm. Sur l'un d'eux, on dépose 3 micro-gouttes de solution d'urée à 1 ‰ (environ 6 gammas) ; les 2 autres sont réservés aux liqueurs à analyser.

### 3) Développement des chromatogrammes

Le chromatogramme étant préparé, on le suspend dans la cuve à chromatographier, qui contient en permanence la phase stationnaire (solution aqueuse saturée de phénol). L'extrémité inférieure du papier vient toucher le fond d'un bac vide placé lui-même dans la cuve. La cuve est close grâce à un couvercle parfaitement ajusté ; les surfaces de contact entre cuve et couvercle sont enduites de graisse afin d'obtenir une fermeture hermétique.

Le chromatogramme est ainsi laissé pendant 2 heures. Pendant ce temps, le papier-filtre se sature en vapeurs aqueuses. Puis, au moyen d'un long tube de verre, passant par un orifice ménagé à cet effet dans le couvercle et obturé en temps normal par un bouchon de caoutchouc, on fait couler le solvant dans le bac situé au fond de la cuve à chromatographier. L'extrémité du papier-filtre trempe alors dans ce solvant, qui par capillarité, monte et va entraîner les substances recherchées. Le tout est placé dans une enceinte à température constante, réglée à environ 22°. Ne disposant pas d'une salle spéciale, nous avons placé nos cuves à chromatographier dans une grande étuve.

Le développement des chromatogrammes ascendants ainsi disposés dure en moyenne 39 heures. La distance entre le front du solvant et la ligne sur laquelle ont été déposés les spots de départ est alors de 31 à 33 cm.

La plupart de nos chromatogrammes ont été ainsi développés selon la méthode ascendante. Nous en avons aussi effectué quelques-uns en chromatographie descendante. Dans ce cas, la ligne de dépôt est tracée à 7 cm de l'extrémité de la feuille de papier, extrémité qui est repliée dans une gouttière et maintenue grâce à une lourde tige de verre. Le chromatogramme est placé dans la cuve et s'y sature en phase aqueuse, comme dans le cas précédent. Après 2 heures, on fait passer le solvant dans la gouttière, et il s'écoule par gravité. En 19 heures il parvient à une petite distance de l'autre extrémité de la feuille de papier. Le développement est alors terminé.

Les chromatogrammes préparés pour la recherche de l'urée au butanol ammoniacal sont développés en 8 heures en chromatographie ascendante, dans un récipient cylindrique. Comme dans le cas précédent, on laisse le chromatogramme se saturer en phase stationnaire, avant de faire commencer l'écoulement de la phase mobile... La distance parcourue par le solvant lors de l'arrêt est de 20 cm environ à partir de la ligne de dépôt des solutions.

### 4) Révélation des chromatogrammes

Le chromatogramme développé est séché, d'abord à l'air libre, puis dans un courant d'air. Les dernières traces de phénol sont

éliminées par un rapide chauffage à 100°, puis enfin par un lavage au moyen de tétrachlorure de carbone. Une élimination totale du phénol est nécessaire avant la révélation, en particulier lors de la recherche de l'acide urique.

La révélation des taches correspondant à l'acide urique est obtenue en trempant le papier dans une solution de nitrate d'argent ammoniacal, selon la méthode de Dent. On laisse sécher à l'air libre. Après 15 à 20 minutes, apparaissent les taches noires caractéristiques. Lorsque les taches de référence sont devenues très nettes, la révélation peut être considérée comme satisfaisante ; on photographie le chromatogramme s'il y a lieu, on le stabilise en le trempant un temps très court dans une solution diluée d'hyposulfite et de sulfite de sodium (1) ; on le lave à l'eau très longuement, puis on le sèche.

Les uréides glyoxyliques et l'urée sont mis en évidence par pulvérisation de réactif d'Erlich sur le papier-filtre. On laisse sécher à la lumière. Après des durées variables, apparaissent des taches jaunes correspondant, s'il y a lieu, aux emplacements gagnés par l'acide allantoïque, l'allantoïne et l'urée. Toutefois, d'autres substances peuvent réagir de la même façon avec le réactif utilisé. Il est donc nécessaire de vérifier chaque fois s'il y a concordance entre les Rf des taches ainsi formées et les Rf dus aux corps de référence.

## Conclusion

Ces diverses méthodes vont nous permettre de caractériser et de doser chez nos sujets et dans leurs excreta à la fois l'acide urique et les composés formés grâce à sa dégradation enzymatique, en particulier l'allantoïne et l'acide allantoïque.

Les méthodes physico-chimiques employées donnent déjà des résultats valables. L'utilisation d'uricase permet de doser l'acide urique avec une totale certitude. Quant à la réaction de Schryver-Fosse, elle peut être donnée à froid par d'autres corps que l'acide glyoxylique ; en fait nous ne l'obtiendrons jamais dans ces conditions. Après passage au bain-marie bouillant, elle peut aussi être obtenue en présence de plusieurs composés. Elle n'est donc pas absolument spécifique de l'acide allantoïque. C'est ainsi qu'on l'obtient aussi en présence des acides mésoxalique, uroxanique et acétique libres (Brunel-Capelle, 1955). Le seul d'entre eux qui

---

(1) Préparation de la solution d'hyposulfite et de sulfite de sodium :
On place dans un erlenmeyer de 1 000 ml :

| | |
|---|---|
| Eau distillée tiède (50°) ..... | 625 ml |
| Hyposulfite de sodium ..... | 240 gr |
| Sulfite de sodium anhydre ..... | 60 gr |

On fait dissoudre, on refroidit et on amène à un litre avec de l'eau distillée. Cette solution est diluée au 1/10e avec de l'eau distillée au moment de l'emploi.

pourrait nous induire en erreur, en supposant qu'il soit libre et non à l'état de sels, est l'acide acétique, car les deux autres n'ont jamais été rencontrés chez les êtres vivants.

La chromatographie sur papier nous permet de caractériser par des méthodes indépendantes des précédentes et offrant toutes garanties de spécificité, à la fois l'acide urique et les uréides glyoxyliques (allantoïne, acide allantoïque) ; elle nous autorise à affirmer avec une certitude absolue leur présence dans le matériel examiné ; elle nous permet en particulier de lever tout doute concernant l'acide allantoïque.

Elle permet aussi de mettre en évidence l'urée, composé généralement trop peu abondant dans notre matériel pour y être caractérisé par les méthodes habituelles.

SECONDE PARTIE

# LES ENZYMES DE L'URICOLYSE

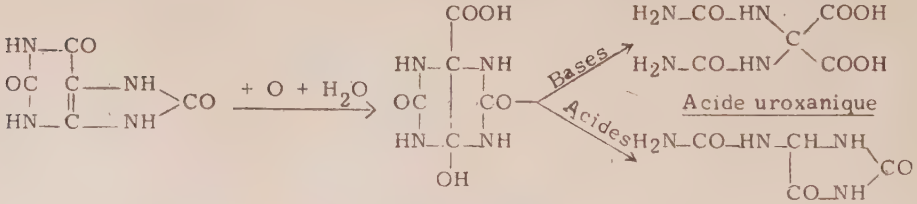
Cette partie est consacrée à l'étude des trois enzymes uricase, allantoïnase et allantoïcase. Nous rechercherons, pour chacune d'elles, sa répartition dans l'ensemble de la classe des Insectes, et essayerons de préciser sa localisation dans le corps des espèces qui en sont pourvues. L'utilisation des poudres enzymatiques dont nous avons déjà décrit le mode d'élaboration nous permettra d'étudier certains aspects de l'activité de ces enzymes et en particulier de noter leur comportement en fonction des variations de certains facteurs. Nous comparerons les résultats ainsi obtenus en présence d'enzymes de différents Insectes, et pourrons nous référer aux travaux analogues effectués sur du matériel fourni par d'autres êtres vivants. Nous insisterons surtout sur l'étude des deux facteurs principaux susceptibles d'affecter l'action de ces enzymes et pouvant avoir éventuellement un intérêt écologique : température et pH. L'impossibilité de réunir un matériel assez abondant pour en extraire les enzymes à l'état pur nous amène à renoncer actuellement au calcul des caractéristiques de leur cinétique.

Nous ne nous attarderons pas sur l'uréase, car aucun des Insectes pourvus du chaînon précédent (l'allantoïcase) ne possède cette enzyme.

## I. — L'URICASE

Dès 1859, Stokvis constata la disparition d'acide urique mis en solution dans des milieux contenant des broyats de certains organes. En 1897, Chassevant et Richet ont montré que le foie du Chien détruit l'acide urique. Les années suivantes, de nombreux auteurs ont étudié cette disparition de l'acide urique placé en présence d'organes variés de Mammifères ; il convient de signaler, entre autres, les travaux de Schittenhelm (1905), Wiechowski et Wiener (1907), Battelli et Stern (1909), Wiechowski (1907), (1913). Le facteur responsable est une oxydase, que Wiechowski et Wiener ont nommé « Harnsaüreoxydase », nom qui a été supplanté par « Uricase » à la suite de Battelli et Stern.

Sur le plan purement chimique, l'acide urique peut déjà se transformer en produits plus simples selon 2 voies (Behrend, 1904) :




Acide urique — Acide oxy-acétylène-diuréine-carbonique — Allantoïne

l'acide urique donnant d'abord un produit instable, l'acide oxy-acétylène-diuréine-carbonique, à partir duquel se forme de l'acide uroxanique en milieu alcalin, de l'allantoïne en milieu acide.

La dégradation enzymatique de l'acide urique se fait également en deux temps (Felix, Scheel et Schuler, 1929) : l'uricoxydase oxyde et hydrate l'acide urique et donne l'acide oxy-acétylène-diuréine-carbonique (pH optimum : 8,9) ; ce composé subit ensuite une décarboxylation (pH optimum 9,9), grâce à une décarboxylase, ou peut-être même sans intervention enzymatique (Keilin et Hartree, 1936) et conduit à l'allantoïne.

« In vitro », l'action de l'uricase peut conduire à des composés divers (Cannellakis et Cohen, 1955 ; Paul et Avi-Dor, 1954) : en

pH acide, on obtient de l'alloxane, en pH voisin de la neutralité, de l'allantoïne, et en pH alcalin (supérieur à 8) de l'acide alloxanique et de l'urée. Pour Mason (1957), ces derniers composés ne se formeraient qu'en présence de solutions tampons à base de borate de sodium, tandis qu'en présence de phosphates, l'allantoïne seule est obtenue ; et même en présence de borates, on retrouve encore sous forme d'allantoïne 30 % de l'acide urique mis en expérience (Davidson, 1942 ; Cannellakis et Cohen, 1955 ; Hubscher, Baum et Malher, 1957). On pourrait même obtenir, en présence de solutions tampons alcalines spéciales, de l'acide uroxanique (Klemperer, 1945 ; Praetorius, 1948). De tels résultats avaient déjà été entrevus par Wiechowski ; mais cet auteur avait démontré que « in vivo » l'uricase donne toujours de l'allantoïne. Il considérait d'ailleurs l'allantoïne comme le terme ultime du catabolisme des nucléoprotéines. Plus tard, Nemec (1920), Przylecki (1925), Fosse et Brunel (1929), Brunel (1936-1937) ont prouvé que d'autres enzymes peuvent conduire plus loin le catabolisme.

Przylecki et Truszkowski (1928) étudiant les propriétés d'une poudre uricasique préparée à partir de tissus de grenouille, ont remarqué que l'enzyme est inhibée par le cyanure. Ils ont démontré également que le co-enzyme est un métal, et ont estimé que ce ne peut être que le cuivre. Plus près de nous, les propriétés de l'uricase ont fait l'objet des travaux de Davidson, Leone (1955), et surtout de Baum, Hubscher et Mahler (1955-1957) qui, travaillant sur une poudre uricasique très purifiée, ont prouvé la présence de cuivre dans l'enzyme, et ont effectué une série de recherches sur sa cinétique.

A la suite de tous ces travaux, on admet que la réaction s'effectue en définitive de la façon suivante :

$$\text{Acide urique} + 1/2\ O_2 + 2\ OH_2 \xrightarrow{\text{Uricase}} \text{Allantoïne}, + CO_2 + O_2H_2.$$

La formation simultanée d'allantoïne et de peroxyde d'hydrogène avait déjà été signalée par Keilin et Hartree. Les travaux récents, mentionnés ci-dessus, ont confirmé ce point.

L'uricase, si abondante chez de nombreux Vertébrés : Cyclostomes (Florkin et Duchateau, 1943), Poissons Ganoïdes et Dipneustes (Id.), Poissons Sélaciens et Téléostéens, Amphibiens (Przylecki, 1925), Brunel, 1937), Mammifères (Wiechowski), existe aussi chez beaucoup d'Invertébrés : Echinodermes (Przylecki, 1926, Fosse et Brunel, 1929), Sipunculiens (Florkin et Duchateau, 1943), Mollusques, Crustacés Décapodes (Id. ; Fosse et Brunel, 1930 ; Brunel, 1938 ; Brunel et Fischer, 1954). Elle est par contre peu connue chez les Insectes. Pourtant, dès 1935, Truskowski et Chajkinowna observaient son existence chez les

Diptères *Musca domestica* L. et *Musca carnaria* L., et Leifert signalait l'avoir mise en évidence chez le Lépidoptère *Antherea pernyi* Guer. (chenille et pupe). En 1938, Brown étudiant l'élimination urique chez la Mouche *Lucilia sericata* Mg. démontrait la présence d'uricase chez la larve et l'imago de son sujet, la nymphe en étant dépourvue. A la même époque, Rocco (1936-1938) ayant recherché l'uricase et l'allantoïnase chez divers Orthoptères et Coléoptères, affirmait avoir mis en évidence ces enzymes chez certaines espèces. Poisson et Razet (1952-1953), Razet (1952, 1953, 1954, 1956, 1957) ont aussi signalé l'uricase chez un bon nombre d'Insectes. A la suite des observations de Ludwig et Cullen (1956), on peut se demander si l'enzyme n'existe pas également chez le Coléoptère scarabéide *Popillia japonica* Newm.. Lisa et Ludwig (1959) font observer que l'uricase a été mise en évidence dans la larve de la Guêpe *Sceliphon cementarius* Drury, et chez la Blatte *Periplaneta americana* L. ; ils l'ont eux-mêmes extraite du tissu adipeux de la Blatte *Leucophaea maderae* F.

## RECHERCHE GÉNÉRALE DE L'URICASE CHEZ LES INSECTES

### A. — Recherche qualitative

Cette recherche sera effectuée en faisant agir les tissus de l'Insecte sur une solution d'acide urique. La trioxypurine est d'abord oxydée en allantoïne, en cas de présence d'uricase, puis spontanément (si l'Insecte étudié possède de l'allantoïnase) ou grâce à l'action d'extrait de Soja (dans le cas contraire) l'allantoïne est transformée en acide allantoïque. C'est ce dernier corps qui sera recherché. On prépare donc une solution d'acide urique M/500 en solution tampon phosphate-soude de pH 8,0, soit :

| | |
|---|---|
| Acide urique | 16,8 mg |
| NaOH N/5 (pour donner urate disodique) | 1,0 ml |
| NaOH N/5 (du tampon) | 11,7 ml |
| $PO_4KH_2$ M/5 | 12,5 ml |
| Eau distillée | 24,8 ml |

On place d'abord dans un erlenmeyer l'acide urique et la quantité totale de NaOH N/5. On agite pour faire dissoudre l'acide urique. On ajoute ensuite le phosphate et l'eau. On ne prépare de cette solution que la quantité nécessaire chaque fois, car elle doit être utilisée fraîche.

En même temps, on effectue une macération de l'Insecte à étudier en le broyant avec la solution tampon phosphate soude de pH 8,0. On laisse en contact pendant quelques minutes ; on centrifuge ou on filtre sur coton pour éliminer les parties solides. On place alors au bain d'eau à 38° les milieux de composition suivante :

| Milieux | E | T |
|---|---|---|
| Macération | 5 | 5 ml |
| Solution d'acide urique M/500 | 5 | — ml |
| Tampon à pH 8,0 | — | 5 ml |
| Toluène | 4 | 4 gttes |

Après 24 heures, on ajoute l'allantoïnase de Soja et le cyanure de potassium. On laisse encore au bain-marie pendant 14 heures.

Dans le cas où l'enzyme allantoïnase a été mise en évidence chez l'Insecte étudié, l'addition d'allantoïnase de Soja n'est pas nécessaire, et on peut rechercher immédiatement, après les 24 heures, la présence d'acide allantoïque.

Sur la totalité ou sur une partie aliquote des milieux E et T, on effectue une défécation selon la méthode exposée précédemment. On acidifie avec ClH N de sorte à amener à une acidité de N/100 ; on centrifuge et on filtre ; on effectue enfin sur les liqueurs obtenues la caractérisation de l'acide allantoïque par la réaction de Schryver-Fosse, avec passage au bain-marie bouillant.

Si l'acide allantoïque est présent dans la liqueur, il a été hydrolysé au bain-marie bouillant en donnant de l'acide glyoxylique, et ce dernier a produit en milieu fortement chlorhydrique une coloration rouge intense en présence de chlorhydrate de phényl-hydrazine et de ferricyanure de potassium. Si donc l'Insecte étudié possède de l'uricase, on aura une coloration rouge en E. Il pourra arriver qu'une semblable coloration soit observée dans la solution témoin T, mais alors il ne pourra être conclu à la présence d'uricase que si la réaction montre une plus grande intensité en E.

Dans les conditions expérimentales ainsi définies, nous n'avons jamais mis en évidence la formation d'acide uroxanique. L'acide uroxanique donne, à 100° et en milieu chlorhydrique, de l'acide glyoxylique et de l'urée. Cette réaction est commune à celle qui sert à caractériser l'acide allantoïque. Mais alors que l'allantoïne ne peut être caractérisée de cette façon qu'après action de l'allantoïnase, l'acide uroxanique la donne immédiatement... Or en présence des tissus des Insectes pourvus d'uricase seule, il ne se forme pas de corps donnant la réaction de Schryver-Fosse avec le protocole exposé ci-dessus. Quant aux espèces pourvues à la fois d'uricase et d'allantoïnase, nous avons vérifié que dans les milieux contenant leurs tissus et l'acide urique, il ne se forme pas d'acide uroxanique ; nous avons en effet cherché à y caractériser ce corps, grâce à la méthode de Brunel (1936), en utilisant la propriété que

possède l'acide uroxanique de donner, avec l'acétate basique de plomb, des cristaux brillants d'uroxanate de plomb.

Cette recherche a été effectuée sur une liqueur obtenue selon le protocole défini ci-dessus, en mettant en présence une solution tamponnée d'acide urique et une macération de chenilles d'*Aglais urticae* L.

Après 24 heures de contact à 38°, la liqueur a été refroidie vers 0°, déféquée par une quantité calculée de nitrate de plomb en solution saturée, filtrée et neutralisée. On a alors ajouté à 2 ml du filtrat une goutte d'acétate basique de plomb et une goutte d'acide acétique cristallisable. On a abandonné au réfrigérateur pendant 12 heures, mais on n'a pas observé la formation de cristaux d'uroxanate de plomb.

On peut donc considérer que la dégradation enzymatique de l'acide urique chez les Insectes se fait par la voie de l'allantoïne. La présence de cet uréide y sera d'ailleurs constatée dans de nombreux cas.

L'uricase a été ainsi mise en évidence chez de très nombreux Insectes : Aptérygotes (Collemboles) et Ptérygotes : parmi ces derniers on la note en particulier chez quelques Orthoptères, la plupart des Hétéroptères ; elle existe aussi dans tous les ordres d'Holométaboles : Coléoptères, Mégaloptères, Plannipennes, Hyménoptères, Diptères, Mécoptères, Trichoptères, Lépidoptères. Sa répartition est cependant très irrégulière, et de nombreuses espèces en sont dépourvues, dans à peu près tous les ordres cités. Tous les résultats obtenus sont consignés dans le tableau récapitulatif général.

### B. — Activité comparée

On utilise la solution d'acide urique M/500 préparée dans l'expérience précédente. La macération d'Insecte est effectuée dans le tampon phosphate soude de pH 8,0 en proportions calculées de sorte à obtenir, après addition de la solution d'acide urique, des milieux contenant une macération au 1/10e, au 1/20e, ou au 1/40e en présence d'acide urique à la concentration de M/1 000. Supposons que nous partions de 10 ml d'une macération d'Insecte au 1/5e, nous pourrons opérer selon le protocole suivant :

| Milieux | 0 | T | 1 | 2 | 3 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Macération à 1/5e ..... | — | 2 | 4 | 2 | 1 | ml |
| Acide urique M/500 ..... | 4 | — | 4 | 4 | 4 | ml |
| Tampon à pH 8,0 ..... | 4 | 6 | — | 2 | 3 | ml |
| Toluène ..... | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | gttes |

Le milieu 0 permet de vérifier que l'acide urique ne s'est pas spontanément décomposé, ou d'apporter une correction, s'il y a lieu ; la solution T permet de tenir compte des composés apportés

par l'Insecte ; les milieux 1, 2, 3, contiennent respectivement des macérations à 1/10e, à 1/20e et à 1/40e en présence d'acide urique M/1 000. Si le matériel est peu abondant, on se contente d'une macération de départ au 1/10e ou au 1/20e. On place le tout au bain-marie à 38°.

Après 24 heures, chacun des milieux reçoit de l'allantoïne de Soja et 1/1 000 de cyanure de potassium. La quantité d'allantoïnase ajoutée est calculée pour être capable d'hydrolyser le double de la quantité maximum d'allantoïne susceptible de se produire. On laisse encore 14 heures à 38°.

Si l'Insecte étudié possède une allantoïnase active, l'addition d'extrait de Soja n'est pas nécessaire, et on peut passer immédiatement au dosage.

On recherche alors, sur une partie aliquote, après défécation et dilution adéquate avec ClH N/100 la quantité d'acide allantoïque présente dans chacun des milieux 2, 3, 4, en mesurant à l'électrophotomètre l'intensité de la coloration obtenue, et en se référant à la courbe étalon préalablement tracée. On effectue ensuite, s'il y a lieu, les corrections dues aux valeurs données par les milieux 0 et 1. On obtient enfin le titre en acide urique transformé en multipliant les chiffres trouvés par le rapport :

$$\frac{\text{acide urique}}{\text{acide allantoïque}} = \frac{168}{176} = 0{,}95.$$

Le pourcentage d'acide urique détruit sera donné en multipliant ce dernier chiffre par $\frac{100}{168}$ ; on le désignera par la lettre U.

On peut estimer, qu'étant donnée la longue durée de nos expériences, l'uricolyse est probablement terminée lors de leur arrêt, et les chiffres obtenus indiquent le maximum d'acide urique susceptible d'être détruit par la macération utilisée, dans les conditions expérimentales adoptées. On pourra certes en tirer une comparaison sur les possibilités uricolytiques des Insectes étudiés, mais on ne saurait en déduire aucune des propriétés de l'uricase ainsi mise en évidence.

Sauf mention contraire, ces recherches ont été effectuées sur des imagos. Nous ne signalons donc de façon spéciale que les cas où les expériences ont porté sur les autres stades (larvaire ou nymphal). Les larves utilisées sont toutes du dernier stade.

Ces résultats, ne concernant que des Ptérygotes, sont donnés dans les pages ci-après. Sous les rubriques 1, 2, 3, nous indiquons respectivement les pourcentages de transformation obtenue en présence de macérations à 1/10e, à 1/20e ou à 1/40e. Après chaque espèce, nous indiquons entre parenthèse, par un nombre de 1 à 12, le mois correspondant à la capture et à l'expérience.

## SECTION DES POLYNÉOPTÈRES

| Ordre des Orthoptères | | | Valeur de U : 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|---|---|
| *Gryllus bimaculatus* de Geer | ♂ | (élevage) | | | 2,8 |
| » » | ♀ | » | | | 6,9 |
| *Acheta domestica* L. | ♂ | » | | | 4,6 |
| » » | ♀ | » | | | 9,9 |

## SECTION DES PARANÉOPTÈRES

### Ordre des Hétéroptères

**Sous-ordre des Gymnocérates**

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| *Brachypelta aterrima* Forst | (6) | | 5,3 | 1,5 |
| *Graphosoma italicum* Müll. | (9) | | | 3,6 |
| *Aelia acuminata* L. | (9) | | | 14,3 |
| *Carpocoris pudicus* Poda | (9) | | 0,0 | 10,8 |
| *Eusarcoris perlatus* F. | (7) | | | 5,6 |
| *Dolycoris baccarum* L. | (9) | | 0,0 | 10,5 |
| » » | (11) | | 87,5 | 6,7 |
| *Palomena prasina* L. | (9) | | 34,6 | 6,5 |
| *Piezodorus lituratus* F. | (6) | 0,0 | 55,0 | 4,5 |
| *Picromerus bidens* L. | (11) | | 10,0 | 5,6 |
| *Corizus crassicornis* L. | (9) | | | 3,0 |
| *Micrelytra fossularum* Rossi | (11) | 28,6 | 3,3 | 1,0 |
| *Syromastes marginatus* L. | (10) | | 33,3 | 2,3 |
| *Myrmus miriformis* Fall. | (9) | | | 9,0 |
| *Heterogaster urticae* Fab. | (6) | | 5,3 | 2,3 |
| *Pyrrhocoris apterus* L. | (9) | | 37,9 | 40,3 |
| *Nabis ferus* L. | (9) | | 10,9 | 3,1 |
| *Nabis lativentris* Boh. | (9) | | | 10,4 |
| *Nabis limbatus* Dahlb. | (7) | | | 14,0 |
| *Nabis rugosus* L. | (9) | | 12,8 | 5,0 |
| *Acetropis gimmerthali* Flor. ♂ | (6) | | | 38,6 |
| » » ♀ | (6) | | 35,1 | 30,8 |
| *Stenodema calcaratum* Fall. | (5) | | 65,2 | 78,4 |
| *Stenodema laevigatum* L. | (6) | | | 53,9 |
| *Megalocerea linearis* Fuessl. | (11) | | 97,0 | 94,2 |
| *Leptopterna dolobrata* L. | (6) | | 76,8 | 80,1 |
| *Capsus ater* L. | (7) | | | 51,5 |
| *Lygus rugulipennis* Pop. | (10) | | | 84,4 |
| *Lygus pratensis* L. | (6) | | | 55,3 |
| » » | (11) | | 100,0 | 64,4 |
| *Miridius quadrivirgatus* Costa | (6) | | | 20,1 |
| *Calocoris norvegicus* Gmel. | (6) | | 62,5 | 44,4 |
| *Calocoris roseomaculatus* de Geer. | (7) | | | 34,5 |
| *Stenotus binotatus* F. | (6) | | | 24,8 |
| *Capsodes cingulatus* F. | (5) | | 83,5 | 63,4 |
| *Capsodes sulcatus* Fieb. | (6) | | | 63,0 |
| *Hydrometra stagnarum* L. | (4) | | | 41,6 |
| *Gerris lacustris* L. | (9) | | 92,2 | 73,4 |
| » » | (4) | | 51,6 | 38,1 |
| *Gerris gibbifer* Schml. | (4) | | 65,9 | 38,8 |

| | | Valeur de U : 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|---|
| *Aquarius najas* de Geer. ♂ ..... | (10) | | 100,0 | 86,1 |
| » » ♀ ..... | » | | 96,7 | 79,8 |
| » » ♂ ..... | (1) | | 53,6 | 38,2 |
| » » ♀ ..... | » | | 54,7 | 37,3 |
| » » ♂ ..... | (4) | | 76,9 | 40,2 |
| » » ♀ gravides | » | | 86,1 | 67,3 |
| » » ♂ ..... | (7) | 79,2 | 62,8 | 39,4 |
| » » ♀ non gravides | (7) | 97,5 | 60,3 | 35,3 |
| » » ♀ gravides | (7) | 76,8 | 57,8 | 28,9 |
| *Aquarius paludum* Fabr. ..... | (9) | | 82,9 | 66,9 |
| » » ..... | (4) | | 63,1 | 39,3 |
| *Velia saulii* Tam. ..... | (9) | | | 55,4 |
| **Sous-ordre des Cryptocérates** | | | | |
| *Nepa rubra* L. ..... | (10) | | 49,3 | 35,8 |
| *Ranatra linearis* L. ..... | (10) | | | 35,2 |
| *Naucoris cimicoïdes* L. larves ..... | (5) | | | 15,3 |
| » » imagos ..... | (5) | 60,5 | 26,7 | 14,9 |
| » » » ..... | (9) | 36,3 | 36,5 | 7,0 |
| *Naucoris maculatus* Fab. ..... | (9) | 66,5 | 45,4 | 17,7 |
| » » ..... | (5) | 61,4 | 23,5 | 3,5 |
| *Notonecta glauca* L. ..... | (7) | | 15,6 | 11,4 |
| » » ..... | (10) | 38,8 | 11,0 | 8,8 |
| *Notonecta maculata* Fabr. ..... | (10) | | 14,0 | 12,5 |
| *Notonecta obliqua* Gallen. ..... | (10) | | | 6,0 |
| *Notonecta viridis* Delcourt ..... | (10) | | | 2,5 |
| ORDRE DES HOMOPTÈRES | | | | |
| *Aphis brassicae* L. ..... | (11) | | 9,0 | 2,8 |
| SECTION DES OLIGONÉOPTÈRES | | | | |
| ORDRE DES COLÉOPTÈRES | | | | |
| **Sous-ordre des Heterogastra** | | | | |
| *Cidnopus pilosus* Leske ..... | (4) | | 7,9 | 4,2 |
| *Agriotes pilosus* Panz. ..... | (5) | | | 7,8 |
| *Coccinella septem-punctata* L. ..... | (10) | | | 3,6 |
| **Sous-ordre des Adephaga** | | | | |
| *Hadrocarabus problematicus* Herbst ♀ | (10) | 15,3 | 5,1 | 1,9 |
| » » ♂ | (10) | 13,5 | 8,6 | 1,9 |
| *Procrustes purpurascens* F. ..... | (10) | 13,7 | 8,8 | 0,9 |
| *Chaetocarabus intricatus* L. ♂ ..... | (5) | 6,8 | 2,5 | 2,0 |
| » » ♀ ..... | (5) | 4,4 | 2,0 | 1,5 |
| *Cychrus caraboïdes* L. ..... | (5) | | | 4,0 |
| *Dytiscus semisulcatus* Müll. ♂ ..... | (10) | 25,0 | 19,0 | 10,7 |
| » » ♀ ..... | (10) | 3,8 | 5,1 | 3,2 |
| *Dytiscus pisanus* Cast. ..... | (4) | | 1,8 | |

| | | Valeur de U : 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|---|
| *Dytiscus dimidiatus* Bergstr. ..... | (3) | 4,9 | | |
| *Gybister lateralimarginalis* de Geer .. | (4) | | 1,2 | |
| *Colymbetes fuscus* L. ..... | (7) | | 1,8 | 1,2 |
| *Gyrinus substriatus* Steph. ..... | (6) | | 5,2 | 6,6 |
| **ORDRE DES HYMÉNOPTÈRES** | | | | |
| **Sous-ordre des Symphytes** | | | | |
| *Hemichroa crocea* Geoff. larves ..... | (9) | | | 1,5 |
| *Croesus septentrionalis* L. larves .... | (9) | 4,7 | 1,1 | 1,9 |
| *Pteronidea salicis* L. larves ..... | (10) | | 0,7 | 3,0 |
| *Diprion pini* L. larves ..... | (6) | 3,0 | 2,7 | 6,8 |
| **ORDRE DES MÉGALOPTÈRES** | | | | |
| *Sialis flavilatera* L. larves ..... | (10) | | 4,8 | 4,4 |
| » » imagos ..... | (4) | | 3,0 | 3,1 |
| **ORDRE DES PLANNIPENNES** | | | | |
| *Chrysopa vulgaris* L. ..... | (11) | | | 22,2 |
| *Chrysopa perla* L. ..... | (5) | | | 6,4 |
| **ORDRE DES MÉCOPTÈRES** | | | | |
| *Panorpa communis* L. ..... | (6) | | | 6,1 |
| **ORDRE DES TRICHOPTÈRES** | | | | |
| *Mystacides azurea* L. ..... | (6) | | | 10,3 |
| **ORDRE DES DIPTÈRES** | | | | |
| **Sous-ordre des Nématocères** | | | | |
| *Tipula truncorum* Meig. ..... | (5) | | 11,2 | 4,0 |
| *Tipula pagana* Meig. ..... | (10) | | 35,4 | 8,0 |
| *Tipula luteipennis* Meig. ..... | (10) | 12,4 | 12,4 | 13,9 |
| *Tipula paludosa* Meig. ..... | (10) | 18,7 | 18,4 | 16,2 |
| **Sous-ordre des Brachycères** | | | | |
| *Chortophylla brassicae* Bouché ..... | (10) | | | 2,7 |
| **ORDRE DES LÉPIDOPTÈRES** | | | | |
| **Super-famille des Bombycoïda** | | | | |
| *Gastropacha quercifolia* L. chenilles .. | (5) | 11,0 | 4,7 | 2,2 |
| *Lasiocampa quercus* L. chenilles .. | (5) | 5,4 | 2,7 | 0,0 |
| *Lasiocampa trifolii* L. chenilles .. | (5) | 8,2 | 3,8 | 5,6 |
| *Macrothylacea rubi* L. chenilles .. | (10) | | 9,2 | |
| **Super-famille des Papilionoidea** | | | | |
| *Pieris brassicae* L. chenilles ..... | (9) | 7,3 | 6,9 | 11,1 |
| » chrysalides ..... | (5) | | | 2,3 |

| | | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|---|
| *Vanessa atalanta* L. | (10) | | 77,8 | 30,2 |
| *Vanessa io* L. chenilles | (7) | | | 9,3 |
| » » chrysalides | (7) | | | 11,0 |
| » » imagos | (7) | | | 10,1 |
| *Aglais urticae* L. chenilles | (6) | 19,2 | 10,4 | 7,8 |
| » » chrysalides | (7) | 36,9 | 13,6 | 21,0 |
| » » imagos | (7) | | | 3,2 |
| *Pararge megera* L. | (9) | | 6,2 | 5,0 |
| *Pararge egeria* L. | (10) | | 21,0 | 8,8 |
| *Polyommatus icarus* Rott. | (9) | | 3,1 | 0,4 |
| **Super-famille des Noctuoidea** | | | | |
| *Tyria jacobaeae* L. | (8) | | | 1,1 |
| *Euxoa segetum* Schiff. chenilles | (élevage) | | | 5,0 |
| *Agrotis comes* Tr. chenilles | (élevage) | | | 1,6 |
| *Agrotis ypsilon* Rott. chenilles | (élevage) | | | 6,7 |
| » » imagos | (11) | | | 2,6 |
| *Lycophotia saucia* Hb. | (10) | | | 6,3 |
| *Mammestra brassicae* L. chenilles | (élevage) | | | 4,3 |
| » » chrysalides | (élevage) | | | 2,2 |
| *Tholera popularis* Fab. | (9) | | | 2,8 |
| *Antitype flavicincta* Schiff. | (10) | | | 11,0 |
| *Rhyzotype flammea* Esp. | (11) | | 10,4 | 3,7 |
| *Conistra vaccinii* L. | (11) | | | 7,2 |
| *Amathes circellaris* Hfn. | (11) | | | 4,5 |
| *Amathes lychnidis* Schiff. | (11) | | | 7,8 |
| *Amathes macilenta* Hb. | (11) | | | 11,1 |
| *Trigonophora meticulosa* L. chenilles | (élevage) | 18,4 | 15,6 | 6,2 |
| » » imagos | (10) | | | 4,2 |

## C. — Discussion des résultats

Tous ces résultats, joints à ceux que nous avons déjà obtenus sur le plan purement qualitatif, nous permettent d'affirmer que l'enzyme uricase, responsable de la destruction de l'acide urique dans les organismes vivants, est très répandue chez les Insectes. Elle est même particulièrement active chez certains d'entre eux, tels certains Hétéroptères. Son activité est encore très appréciable chez de nombreux Holométaboles : Coléoptères, Névroptéroïdes, Diptères Tipulides, Lépidoptères.

Si l'uricase est ainsi mise en évidence de façon indubitable chez un bon nombre d'Insectes, son activité, dans une espèce donnée, peut montrer des variations, et cela en fonction, semble-t-il, de divers facteurs.

L'activité uricasique peut d'abord varier en fonction des saisons, et nous sommes d'avis que ces variations reflètent les modifications du métabolisme général. Nous avons remarqué en particulier, chez certains sujets qui hivernent et se reproduisent au

printemps, une activité particulièrement importante à l'automne (en octobre-novembre), au moment où ces animaux doivent élaborer leurs produits de réserve pour hiverner. C'est ainsi que l'activité uricasique des Gerrides est maxima en automne ; elle diminue ensuite notablement pendant l'hiver, puis remonte au printemps, mais sans redevenir aussi importante qu'à l'automne.

Nous nous sommes demandé si les deux sexes d'une même espèce sont également pourvus en enzyme. Les recherches effectuées dans ce sens donnent des résultats différents selon les espèces considérées. Chez les Orthoptères Gryllides, l'uricase des femelles est plus active. Dans la plupart des autres cas, c'est le contraire, les mâles semblant plus riches en enzyme. Il convient toutefois de remarquer que si une telle constatation est valable pour *Aquarius najas* à l'automne, elle ne l'est plus pendant l'hiver (l'activité uricasique est alors sensiblement égale dans les deux sexes) ni surtout au printemps, lors de la ponte, (les femelles possédant à ce moment une uricase beaucoup plus active). On peut penser, comme nous l'avons déjà suggéré, que les variations de l'activité uricasique ainsi observées sont en relation avec les variations du métabolisme général.

Nous avons examiné à la fois des Hétérométaboles et des Holométaboles, et en ce qui concerne ces derniers, nous avons dans quelques cas évalué leur activité uricasique aux différents stades de leur vie. Nous avons noté le plus souvent assez peu de différences dans les résultats obtenus. Il semble toutefois que *Pieris brassicae* ne possède une uricase active qu'au stade larvaire ; l'enzyme se manifeste beaucoup moins dans la chrysalide et n'a pu être retrouvée dans l'imago. L'uricase d'*Agrotis ypsilon* nous a paru également plus active au stade larvaire ; celle d'*Aglais urticae* l'est plutôt au stade nymphal... Des observations complémentaires nous montreront que les résultats très importants obtenus en présence d'imagos de *Vanessa atalanta* correspondent à une uricolyse particulièrement importante à ce stade. Il semble bien que les variations de l'activité uricasique des Holométaboles en fonction de leur cycle vital soient en général d'ordre qualitatif, le schéma métabolique restant le même. Les variations observées sont d'ailleurs spécifiques des espèces considérées, et on ne saurait en inférer d'une espèce à une autre, même très voisine. Nous devons dire toutefois qu'à ce point de vue nos observations sont encore très fragmentaires, et qu'elles devront être complétées ultérieurement.

Nous remarquons qu'une macération plus concentrée ne catalyse pas nécessairement l'oxydation d'une plus grande quantité d'acide urique. Si dans la plupart des cas il existe une certaine proportionnalité entre la concentration de la macération et l'importance de l'uricolyse, si même chez certaines espèces l'uricase ne se manifeste de façon appréciable que dans les macérations concen-

trées, il arrive par contre, chez d'autres Insectes, que la quantité d'acide urique détruite reste sensiblement égale dans les macérations à 1/10e, à 1/20e ou à 1/40e ; il arrive même que les chiffres les plus importants soient obtenus avec les macérations les plus diluées, ou, dans les cas extrêmes, qu'aucune activité uricasique ne se manifeste au contact des macérations un peu concentrées. Doit-on supposer, chez les Insectes donnant ces derniers résultats, l'existence de substances inhibitrices, mises en liberté lors de la préparation des macérations, mais n'agissant qu'à partir d'une certaine concentration, d'un certain seuil ?

La grande répartition de l'uricase, son activité, nous font un devoir d'affirmer que les Insectes ne doivent plus être considérés dans leur ensemble comme uricotéliques, mais que beaucoup d'entr'eux sont réellement uricolytiques. Les variations observées dans l'activité de l'enzyme en fonction du métabolisme général nous permettent d'envisager des recherches nombreuses sur la physiologie des Insectes intéressés.

## ESSAIS DE LOCALISATION DE L'URICASE DES INSECTES

La recherche de la localisation de l'uricase a été conduite en principe sur les Insectes les mieux pourvus en cette enzyme. La liste précédente nous a montré qu'un bon nombre d'Hétéroptères en sont particulièrement riches. Mais ce sont là des Insectes de petite taille et de faible poids. Si on veut les disséquer pour connaître séparément l'activité uricolytique des divers organes, il faut opérer simultanément sur un grand nombre d'individus pour obtenir une quantité de tissus susceptible d'être évaluée pondéralement et capable de catalyser la destruction d'une quantité appréciable d'acide urique. Ce n'est pratiquement pas possible.

Pour cette raison, nous avons dû nous adresser à des espèces moins riches. Nous les avons disséquées avec soin et placé chacun de leurs principaux organes dans un erlenmeyer taré contenant 5 ml de solution tampon phosphate soude de Clark et Lubs à pH 8,0 ; nous avons évalué le poids de l'organe, et ajouté 5 ml de solution d'acide urique M/500 dans le même tampon. Ainsi que dans les expériences précédentes, nous avons laissé le tout au bain-marie à 38° pendant 24 heures (en présence de quelques gouttes de toluène). Après ce laps de temps, on ajoute du cyanure et de l'extrait de Soja, et on laisse encore au bain-marie pendant 14 heures, sauf dans le cas où l'Insecte étudié possède lui-même de l'allantoïnase. On évalue ensuite à l'électrophotomètre la quantité d'acide allantoïque formée. Des expériences témoins effectuées simultanément permettent d'apporter toutes corrections néces-

saires. Les résultats obtenus sont alors évalués en mg d'acide urique détruits pour 100 mg de tissus. Nous donnons ci-après ces résultats :

*Acide urique détruit* (en mg par 100 mg d'organe) :

| Insectes étudiés | Tube digestif | Tubes de Malpighi | Gonades | Tissu adipeux | Reste |
|---|---|---|---|---|---|
| *Hadrocarabus problematicus.* | 0,034 | 2,3 | 0, | 0,19 | 0,005 |
| *Chaetocarabus intricatus* ... | 0,12 | 0,633 | 0,067 | 0,023 | 0,005 |
| *Dytiscus semisulcatus* ..... | 0,58 | 1,42 | 0,23 | — | 0,14 |
| *Gryllus bimaculatus* ..... | 0,06 | 1,06 | 0, | 0,001 | 0,11 |

Ces résultats nous montrent que l'enzyme est en général répartie dans tout le corps, mais est particulièrement abondante dans les tubes de Malpighi. Des expériences semblables, effectuées sur la Mouche *Calliphora erythrocephala* Mg. nous ont permis d'observer de même une accumulation notable de l'uricase dans les tubes de Malpighi. Dans les mêmes conditions, on constate, en présence des tubes de Malpighi du Grillon *Acheta domestica* L., la disparition de 0,68 mg d'acide urique pour 100 mg de poids d'organes, les résultats obtenus en présence des autres organes étant négligeables.

Le tissu adipeux de nos sujets ne nous a pas semblé doué de propriétés uricolytiques notables. Cependant, d'après Leifert, l'uricase de la chenille d'*Antherea pernyi* est localisée exclusivement dans le tissu adipeux. Lisa et Ludwig, après avoir rappelé que les cellules du tissu adipeux de la larve de la Guêpe *Sceliphon cementarius* secréteraient de l'uricase, signalent avoir eux-mêmes préparé une uricase assez active à partir du tissu adipeux de la nymphe et de l'imago de la Blatte *Leucophaea maderae*. Certes, la sécrétion de l'enzyme par les cellules du tissu adipeux ne semble pas avoir été démontrée ; c'est là néanmoins une hypothèse vraisemblable. Et si on accepte cette hypothèse, il faut alors admettre que l'uricase, déversée dans l'hémolymphe par les cellules du tissu adipeux, véhiculée dans tout l'organisme, est retirée de l'hémolymphe et concentrée par les tubes de Malpighi, d'où la haute teneur de ces organes en enzyme. Le problème se présentera de la même façon pour l'allantoïnase.

## SUR QUELQUES FACTEURS AFFECTANT L'ACTION DE L'URICASE

Nous nous proposons de rechercher quelques particularités de l'action de l'uricase des Insectes. Dans ce but, nous avons préparé, à partir d'espèces suffisamment riches en cette enzyme, les poudres enzymatiques $P_1$, $P_2$ et $P_{21}$ dont nous avons déjà exposé le mode

d'obtention. Nous allons ainsi rechercher en particulier les conditions les plus favorables en ce qui concerne le pH et la température. Toutefois, comme nous l'avons déjà fait remarquer, il ne nous a pas été possible de réunir une quantité suffisante de matériel pour élaborer des préparations enzymatiques purifiées, permettant de connaître les caractéristiques de la cinétique de l'uricase des Insectes.

Dans nos expériences, nous utilisons la solution d'acide urique à 1 mg par ml (1 ‰) préparée selon la technique déjà connue de Feitchmer et Wrenn. Sur cet acide urique dissous, nous avons fait agir les poudres enzymatiques $P_1$, $P_2$ et $P_{21}$. A la fin de chaque expérience, l'acide urique encore présent dans le milieu est recherché et dosé. Nous avons pour cela employé sucessivement deux méthodes. Nous allons rappeler brièvement le principe de chacune d'elles.

Au début de notre travail, nous avons employé la technique de Buchanan, Christman et Block (1945). Dans ce but, le milieu en expérience est déféqué, amené à un volume connu et filtré. On a recherché ensuite l'acide urique sur une partie aliquote de cette solution, selon la technique citée, en utilisant la solution d'urée-cyanure de Christman et Ravwitch (1932) et le réactif arséno-phospho-tungstique de Benedict (1922). On mesure l'intensité de la coloration bleue obtenue à l'électrophotomètre Meunier (écran 65) ; on en déduit la quantité d'acide urique non oxydée en se référant à la courbe étalon, tracée grâce à l'emploi de solutions de titre connu d'acide urique. On en tire immédiatement le pourcentage d'acide urique détruit. Cette méhode n'est peut-être pas absolument sûre ni entièrement fidèle ; mais malgré quelques réserves, et en absence d'autres moyens, elle permet déjà de suivre l'activité uricasique des poudres élaborées.

Ultérieurement, nous avons eu à notre disposition un spectrophotomètre et avons pu alors rechercher l'acide urique et le doser grâce à son absorption dans l'ultra-violet, à 2 900 Angstroms, selon la technique de spectrophotométrie différentielle mise au point par Kalckar (1947), Praetorius (1949), etc... Dans ce cas, nous avons simplement ajouté au milieu en expérience quelques gouttes d'acide sulfurique 2 N/3 ou d'acide trichloracétique à 2 % pour l'acidifier très légèrement et arrêter toute action uricasique ; nous avons amené à un volume connu et filtré, et mesuré l'absorption de cette solution en densité optique. Nous nous sommes référé à une courbe étalon et avons connu immédiatement la quantité d'acide urique non détruite.

Dans chaque série d'expériences, des milieux témoins, sans acide urique, dont l'absorption a été mesurée au début et à la fin de l'expérience, nous ont permis d'apporter les corrections nécessaires à nos mesures.

Les résultats obtenus au moyen de ces deux méthodes sont totalement concordants. Nous avons toutefois donné notre préférence à la seconde, dès que nous avons eu à notre disposition l'appareillage nécessaire, car elle est vraiment spécifique et permet de travailler avec des quantités moindres de matériel enzymatique.

Toutes nos expériences sont conduites en solution tampon à pH défini. Nous avons utilisé dans ce but les solutions suivantes, préparées selon les indications de Brunel (1949) :
— Tampon phosphate borax de Kolthoff (pH 7,2 à 9,2),
— Tampon phosphate soude de Clark et Lubs (pH 7,0 à 8,0),
— Tampon phosphate monopotassique phosphate disodique de Sörensen (pH 8,3 à 9,2),
— Tampon acide borique soude de Clark et Lubs (pH 7,8 à 10,3),
— Tampon acide borique carbonate de soude d'Atkins et Pantin (pH 7,7 à 10,2).

## A. — Activité comparée des diverses poudres enzymatiques

Nous avons vu que l'Hétéroptère *Aquarius najas* de Geer possède une uricase particulièrement active. Cette espèce se rencontrant en populations généralement assez abondantes, nous en avons recueilli de nombreux exemplaires à diverses époques, avons élaboré les poudres enzymatiques $P_1$, $P_2$, $P_{21}$, et avons placé ces poudres en présence d'acide urique selon un protocole ainsi défini :

| | |
|---|---|
| Poudre enzymatique ..... | 10 ou 50 mg |
| Solution d'acide urique à 1 ‰ .... | 1 ml |
| Solution tampon ..... | 9 ml |
| Toluène ..... | 2 gttes |

Les expériences ont été conduites à la fois avec la solution tampon phosphate soude de pH 8,0 et avec divers autres tampons, au pH 9,2, indiqué par divers auteurs comme représentant l'optimum pour l'action de l'uricase.

Après 6 heures au bain-marie à 38°, nous avons dosé l'acide urique encore présent, et en avons déduit la quantité détruite.

### 1) Activité uricolytique de poudres enzymatiques obtenues à partir d'exemplaires récoltés à l'automne 1958

| Matériel enzymatique | Acide urique détruit en mg dans tampons : Phosphate soude pH 8,0 | Phosphate borax pH 9,2 | Phosphate disodique pH 9,16 | Acide borique soude pH 9,2 |
|---|---|---|---|---|
| $P_2$ 50 mg | 0,45 | 0,47 | 0,51 | 0,58 |
| $P_2$ 10 mg | 0,25 | 0,38 | 0,28 | 0,38 |
| $P_1$ ♂ 10 mg | 0,34 | 0,42 | 0,46 | 0,46 |
| $P_1$ ♀ 10 mg | 0,32 | 0,42 | 0,47 | 0,48 |

De ces résultats, nous tirons les conclusions ci-après :

a) Les préparations enzymatiques d'*Aquarius najas* ont une action uricolytique importante, qui se manifeste surtout avec les tampons de pH 9,2. Nous reviendrons sur ce point.

b) Nous ne continuerons pas à utiliser habituellement la poudre $P_2$ dans la suite de ce travail, bien qu'elle catalyse la destruction d'une quantité appréciable d'acide urique. Nous lui préférons en effet la poudre $P_1$, qui donne des résultats à peu près équivalents à une concentration bien inférieure, et que son mode d'obtention rend plus homogène et d'emploi plus aisé.

c) La poudre acétonique la plus active est celle qui est préparée immédiatement, à partir d'Insectes frais. La poudre $P_{21}$, préparée de la même façon, mais à partir d'une poudre $P_2$, semble contenir beaucoup moins d'uricase.

d) La quantité d'acide urique détruite en présence de poudre $P_1$ est sensiblement la même que cette poudre soit obtenue à partir de mâles ou de femelles. C'est pourquoi, dans la plupart des expériences ultérieures, nous ne nous occuperons pas du sexe des Insectes utilisés lors de la préparation du matériel enzymatique.

### 2) Activité comparée de poudres $P_1$ obtenues à partir de populations différentes

Nous avons encore préparé des poudres enzymatiques $P_1$ d'*Aquarius najas* au printemps 1959 et à l'automne 1959, et avons comparé leurs activités avec celle de la poudre obtenue à l'automne précédent. Nous résumons en un tableau cette comparaison :

| Matériel enzymatique | | Acide urique détruit en mg dans tampons : Phosphate soude pH 8,0 | Phosphate borax pH 9,2 | Phosphate disodique pH 9,16 | Acide borique soude pH 9,2 |
|---|---|---|---|---|---|
| $P_1$ ♀ automne 1958 ... | 10 mg | 0,32 | 0,42 | 0,47 | 0,48 |
| $P_1$ ♂ printemps 1959 .. | 10 mg | 0,28 | 0,38 | 0,31 | 0,38 |
| $P_1$ ♀ automne 1959 ... | 10 mg | 0,24 | 0,40 | 0,28 | 0,44 |

Nous allons essayer d'expliquer les différences constatées ici dans la mesure de l'activité uricolytique des poudres $P_1$, différences confirmées lors d'expériences ultérieures.

La diminution du pouvoir uricolytique entre les poudres de l'automne 1958 et celles du printemps 1959 est conforme aux observations effectuées sur les Insectes frais. On peut accepter l'hypothèse déjà formulée, à savoir que les Insectes sortant d'hiber-

nation, arrivés pratiquement vers la fin de leur vie, ont un métabolisme moins intense qu'à l'automne précédent.

Mais d'autres facteurs semblent intervenir. Nous aurions dû en effet obtenir en octobre 1959 une préparation uricasique aussi active que l'année précédente à la même époque. C'est du moins ce que nous attendions. Il n'en a pas été ainsi. Il semble probable que les différences constatées sont dues, de façon plus ou moins directe, aux différences des conditions climatiques pendant les deux années 1958 et 1959.

En 1958, les *Aquarius* étaient particulièrement abondants formant des populations extrêmement denses. Ces pullulations étaient favorisées par le climat humide qui avait permis aux Insectes phytophages de prospérer, fournissant aux *Aquarius* prédateurs des proies nombreuses.

En 1959 par contre, nos sujets étaient beaucoup moins nombreux. A la suite de l'été très sec, la végétation avait beaucoup régressé ; les plantes herbacées étaient localisées uniquement près des ruisseaux fréquentés par les *Aquarius* ; il y avait par suite peu de phytophages. La raréfaction de la végétation avait amené celle des phytophages, et par suite, celle de leurs prédateurs. On ne trouvait alors de ces derniers que des populations discontinues, peu importantes.

On se demande quelle relation peut exister entre les conditions climatiques et l'activité uricasique. Cette dernière a-t-elle diminué en 1959 parce que le métabolisme aurait été rendu moins intense à la suite de la raréfaction de la nourriture, ou avait-elle au contraire été exagérée en 1958 par suite de la densité de la population, grâce à un phénomène auquel Grassé (1958) a donné le nom « d'effet de masse » ?

Une observation analogue a été effectuée à propos de l'Hétéroptère *Pyrrhocoris apterus* ; les poudres uricasiques préparées à partir d'exemplaires de cette espèce étaient beaucoup plus actives en 1958 qu'en 1959. Nous nous demandons si ce fait n'est pas dû, comme dans le cas précédent, aux conditions climatiques différentes, ayant pu amener, en 1958, un effet de masse.

Nous nous proposons de revenir ultérieurement sur ces observations, et d'en discuter plus longuement les explications.

*Nota.* — Ce sont ces poudres enzymatiques élaborées aux automnes 1958 et 1959 que nous utiliserons dans les pages ci-après sous la désignation $P_1$ 1958 ou $P_1$ 1959.

### B. — Recherche du pH optimum

On considère que l'uricase des Mammifères présente sa plus grande activité en solution tampon à pH voisin de 9,3 (9,25, Keilin

et HARTREE ; 9,4, LONDON et HUDSON). Cependant, d'après FELIX, SCHEEL et SCHULER, il y aurait deux valeurs optimales du pH, l'une à pH 8,9, l'autre à pH 10,1. Nous allons voir comment se comporte à ce point de vue l'uricase des Insectes. Le protocole expérimental est le même que précédemment.

**1) Uricase d'Aquarius najas de Geer**

Acide urique détruit en mg en présence de

a) tampons phosphate borax de Kolthoff de pH :

| Matériel enzymatique | 7,2 | 7,7 | 8,2 | 8,6 | 9,0 | 9,2 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| $P_2$ 50 mg | 0,12 | 0,22 | 0,36 | 0,43 | 0,46 | 0,47 |
| $P_1$ 10 mg | 0,11 | 0,21 | 0,34 | 0,37 | 0,40 | 0,42 |

b) tampons acide borique soude de Clark et Lubs de pH :

| Matériel enzymatique | 9,0 | 9,2 | 9,3 | 9,5 |
|---|---|---|---|---|
| $P_2$ 50 mg | 0,54 | 0,58 | 0,56 | 0,48 |
| $P_1$ 10 mg | 0,44 | 0,48 | 0,50 | 0,46 |

Le maximum de transformation est obtenu avec la solution acide borique soude de Clark et Lubs, pour une valeur de pH de 9,2 - 9,3.

**2) Uricase de Pyrrhocoris apterus L.**

Dans les conditions expérimentales adoptées (10 mg de poudre $P_1$ en présence de 1 mg d'acide urique), la poudre de 1958 a catalysé une destruction à peu près totale de l'acide urique ; on ne pouvait en tirer aucune conclusion quant au pH optimum. La poudre de 1959 nous a permis d'obtenir les chiffres ci-après, traduits dans les courbes I et II (fig. 1) :

Tampons acide borique soude de Clark et Lubs de pH :

| | 7,8 | 8,2 | 8,6 | 9,0 | 9,2 | 9,3 | 9,5 | 9,7 | 9,9 | 10,1 | 10,3 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Acide urique détruit en mg | 0,27 | 0,39 | 0,52 | 0,56 | 0,58 | 0,55 | 0,56 | 0,56 | 0,57 | 0,55 | 0,48 |

Tampons acide borique carbonate de soude d'Atkins et Pantin de pH :

| | 7,7 | 8,2 | 8,7 | 9,0 | 9,2 | 9,5 | 9,7 | 9,9 | 10,2 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Acide urique détruit en mg | 0,25 | 0,28 | 0,43 | 0,46 | 0,53 | 0,51 | 0,52 | 0,49 | 0,39 |

Ces résultats nous montrent que la plus grande activité de l'uricase de *Pyrrhocoris* se manifeste pour un pH de 9,2, avec la solution tampon acide borique soude. On remarquera que la pro-

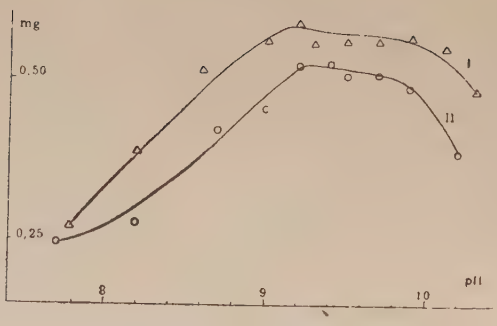



FIG. 1. — Acide urique détruit, en mg, par l'uricase de *Pyrrhocoris apterus*, avec tampons acide borique soude de Clark et Lubs (I), avec tampons acide borique carbonate de soude d'Atkins et Pantin (II), en fonction du pH.

portion d'acide urique transformé varie assez peu pour les valeurs du pH comprises entre 9,0 et 10,1 ; un second optimum, moins marqué certes, semble se manifester vers le pH 9,7. Cette observation est moins nette avec les solutions acide borique - carbonate de soude d'Atkins et Pantin.

On peut admettre que le pH optimum pour l'action de l'uricase des Insectes se situe aux environs de 9,2.

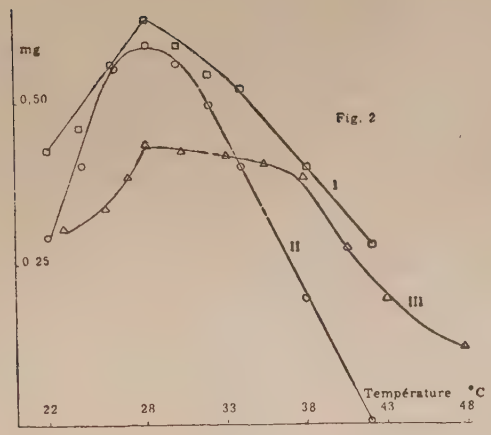
### C. — Recherche de la température optimale

Utilisant les mêmes préparations enzymatiques, nous avons effectué des séries de mesure en plaçant les milieux en expérience, préparés avec la solution tampon la plus favorable, dans des bains-marie à des températures variées, et en cherchant à déterminer la température qui permet le maximum de transformation.

Le protocole adopté a été le même que lors des recherches précédentes. A la fin de chaque expérience, on recherche l'acide urique non détruit ; on en déduit la quantité transformée.

Nous avons ainsi recherché l'optimum de température pour l'action de l'uricase des espèces suivantes : les Hétéroptères *Aquarius najas, Pyrrhocoris apterus, Lygus pratensis, Notonecta glauca, Naucoris maculata*, le Diptère Nématocère *Tipula paludosa*, et la chenille du Lépidoptère *Aglais urticae*. Les résultats se répartissent en deux groupes principaux :

1°) Chez un bon nombre d'Insectes, l'uricase présente son maximum d'activité à 28°. C'est le cas de *Aquarius najas, Lygus pratensis, Notonecta glauca, Tipula paludosa*. Les courbes ci-jointes (fig. 2, 3) traduisent ces résultats.



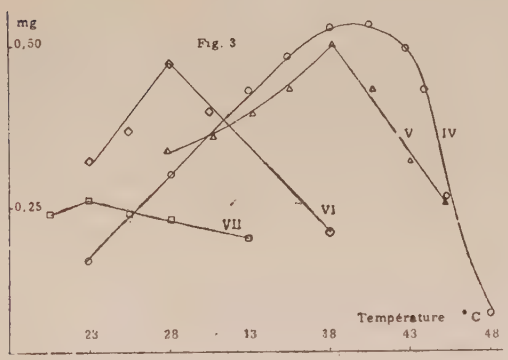




Fig. 2, 3. — Acide urique détruit, en mg, par l'uricase de *Aquarius najas* 1959 (I), *Lygus pratensis* (II), *Notonecta glauca* (III), *Pyrrhocoris apterus* (IV), *Naucoris maculatus* (V), *Tipula paludosa* (VI), *Aglais urticae* (VII), en fonction de la température.

Nous avons soigneusement vérifié cet optimum de 28°. Pour *Aquarius najas* nous l'avons observé avec toutes les poudres enzymatiques en notre possession, quelle que soit leur mode d'élaboration ou leur provenance, ainsi qu'en présence de nombreuses solutions tampons. En ce qui concerne *Lygus pratensis* nous avons aussi constaté que le même optimum se retrouve quelle que soit la solution tampon.

Reprenant nos expériences au moyen de macérations d'Insectes frais, nous avons vérifié que l'uricolyse est plus importante à 28° qu'à 38° en ce qui concerne *Aquarius najas* et *Notonecta glauca* ; il en est de même pour *Gerris gibbifer* et *Gerris lacustris*.

2°) Quelques Hétéroptères (*Pyrrhocoris apterus, Naucoris maculatus*) se comportent différemment : leur uricase montre un maxi-

mum d'activité vers 38°. L'examen des courbes correspondantes (fig. 3) le prouve. Nous avons vérifié ce fait à la fois en présence de solution tampon phosphate disodique de Sörensen, et en solution tampon acide borique soude de Clark et Lubs.

Enfin, nous mettons à part le cas de la chenille du Lépidoptère *Aglais urticae*. En effet, la température optimale pour l'action de son uricase se situe vers 23°. On peut se demander si cette particularité ne provient pas du fait que nous nous sommes adressé ici au stade larvaire d'un holométabole.

Nous observons ainsi que la température la plus favorable à l'action de l'uricase des Insectes varie notablement selon les espèces considérées. Elle passe de 23° (chenille d'*Aglais*) à 38° (*Pyrrhocoris, Naucoris*). On notera spécialement que dans de nombreux cas, cet optimum se situe à 28° : on observe ce fait chez divers Hétéroptères et chez un Diptère.

Toutes ces observations méritent de retenir notre attention ; on admet en effet de façon générale que, pour l'uricase animale, la température optimale est de 39°. (Felix, Scheel, Schuler, Brunel).

Peut-on savoir la cause de telles différences ? Ces particularités de l'uricase des Insectes proviennent-elles de corps étrangers présents dans nos préparations enzymatiques, ou sont-elles dues à des différences plus profondes, affectant la structure même de l'enzyme ? Il ne nous est pas possible actuellement de trancher sur ce point.

*Nota.* — Nous avons vérifié qu'à la température optimale, le pH le plus favorable reste toujours de 9,2 - 9,3 pour l'uricase d'*Aquarius najas* (fig. 4).

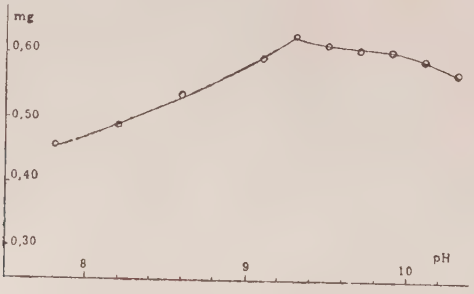



Fig. 4. — Acide urique détruit, en mg, par l'uricase de *Aquarius najas* 1959, en fonction du pH, à la température optimale.

### D. — Influence de la concentration en matériel enzymatique

Opérant toujours dans les conditions les plus favorables définies précédemment, nous avons gardé le même protocole que dans

toutes nos expériences, faisant varier seulement la teneur en poudre enzymatique.

Après 6 heures, nous avons recherché l'acide urique encore présent dans chaque milieu, et en avons déduit la proportion détruite. Le tableau ci-après contient les résultats ainsi obtenus :

| Matériel enzymatique | Mg d'acide urique détruits en présence d'une concentration en poudre enzymatique ‰ de 0,1 | 0,3 | 0,5 | 1, |
|---|---|---|---|---|
| *Aquarius najas* 1958 .... $P_1$ ..... | 0,31 | 0,56 | 0,70 | 0,84 |
| *Aquarius najas* 1959 .... $P_1$ ..... | 0,20 | 0,35 | 0,49 | 0,63 |
| *Pyrrhocoris apterus* 1959 $P_1$ ..... | 0,17 | 0,30 | 0,43 | 0,59 |
| *Tipula paludosa* ..... $P_1$ ..... | 0,09 | 0,24 | 0,33 | 0,48 |

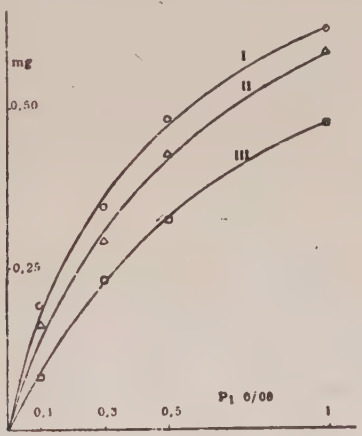



Fig. 5. — Acide urique détruit, en mg, par l'uricase de *Aquarius najas* 1959 (I), *Pyrrhocoris apterus* I II), *Tipula paludosa* (III), en fonction de la concentration en matériel enzymatique (en abscisses, la concentration ‰ en poudre $P_1$).

Les courbes correspondantes ont été tracées (fig. 5) sauf pour *Aquarius najas* 1958.

Nous voyons que dans tous les cas l'uricolyse débute avec une très petite quantité de matériel enzymatique ; la quantité d'acide urique détruite augmente si la concentration en ce matériel devient plus importante, mais il n'y a pas proportionnalité entre l'augmentation de cet apport et l'accroissement de l'uricolyse. C'est là un phénomène que nous connaissons déjà : l'action de l'uricase semble freinée par certaines substances apportées avec la poudre enzymatique.

### E. — Activité de l'uricase en fonction du temps

Connaissant pour chaque poudre utilisée la température, la solution tampon et le pH les plus favorables, nous mettons en expérience, dans les conditions optimales ainsi définies, des milieux comprenant :

| | |
|---|---|
| Poudre enzymatique ..... | 10 mg |
| Solution d'acide urique à 1 ‰ ..... | 1 ml |
| Solution tampon ..... | 9 ml |
| Toluène ..... | 2 gttes |

et après des durées variables, nous recherchons l'acide urique non détruit. Nous en avons déduit les chiffres ci-après :

| Matériel enzymatique | | | Acide urique détruit en mg après : 1h | 2h | 3h | 6h | 9h | 12h |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Aquarius najas* ♂ | 1958 | $P_1$ | 0,40 | 0,58 | 0,65 | 0,86 | 0,95 | 1, |
| » » ♀ | 1959 | $P_1$ | 0,20 | 0,33 | 0,42 | 0,63 | 0,74 | |
| *Pyrrhocoris apterus* | 1959 | $P_1$ | 0,13 | 0,25 | 0,35 | 0,59 | 0,67 | |
| *Lygus pratensis* ..... | | $P_1$ | 0,12 | 0,23 | 0,34 | 0,59 | | |
| *Tipula paludosa* ..... | | $P_1$ | 0,23 | 0,38 | 0,34 | 0,48 | | |

Les poudres enzymatiques d'*Aquarius najas* élaborées en 1958 semblent susceptibles de détruire totalement l'acide urique en 12 heures, dans les conditions expérimentales adoptées.

L'examen des courbes correspondantes aux résultats fournis par *Pyrrhocoris* et *Lygus* (fig. 6) nous indique que dans ces deux cas les réactions sont d'ordre nul, au moins pendant les premières heures de l'expérience. Quant aux autres espèces étudiées, l'allure des courbes obtenues semble indiquer des réactions de premier ordre (fig. 7).

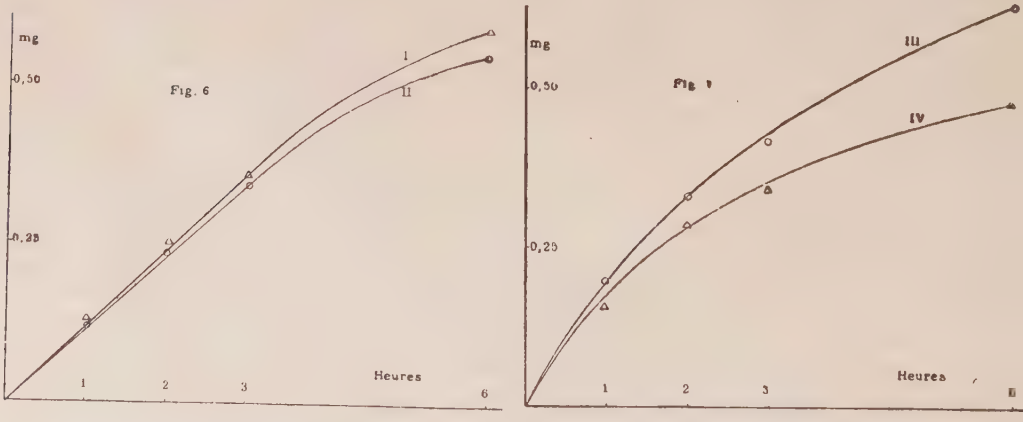



Fig. 6, 7. — Acide urique détruit, en mg, par l'uricase de *Pyrrhocoris apterus* (I), *Lygus pratensis* (II), *Aquarius najas* 1959 (III), *Tipula paludosa* (IV), en fonction du temps.

On obtient ainsi deux types différents de courbes, ce qui semble indiquer des différences importantes dans le comportement de l'uricase des divers Insectes. Cela nous ramène à nous redemander si l'enzyme a bien la même structure dans tous les cas. L'impossibilité où nous sommes actuellement d'obtenir des préparations enzymatiques suffisamment pures nous empêche de pousser plus loin ce genre de recherches.

## F. — Conservation de l'uricase

Après 18 mois, nous avons repris les poudres enzymatiques d'*Aquarius najas* élaborées à l'automne 1958, et conservées dans le vide sur chlorure de calcium desséché à la température ambiante. Nous avons recherché leur activité uricasique dans les conditions optimales ; nous allons indiquer le résultat de ces expériences en rappelant pour comparaison les chiffres obtenus lorsque ces poudres étaient fraîches.

| | Acide urique détruit en mg par : | |
|---|---|---|
| | poudres fraîches | poudres âgées |
| *Aquarius najas* ♂ $P_1$ | 0,86 | 0,78 |
| » » ♀ $P_1$ | 0,88 | 0,76 |

Nous observons que l'uricase de nos Insectes reste très active pendant assez longtemps ; après 18 mois, son pouvoir uricolytique n'a diminué que dans de très faibles proportions.

Nous avons alors pensé rechercher l'uricase sur divers Insectes conservés à sec en vue de collections entomologiques. Nous avons pu mettre en évidence la présence de l'enzyme chez les espèces dont nous allons donner la liste. Chaque nom est suivi d'un chiffre indiquant le nombre de mois écoulé depuis la capture.

### Coléoptères

*Selatosomus latus* F. (9)

### Lépidoptères

Français :

*Papilio sinon* Poda (8) ; *Argynnis aglaja* L. (8)

Guinéens :

*Papilio demodocus* Esp. (10) ; *Papilio pylades* F. (10)
*Amauris hecate* Btlr. (10) ; *Danaïs alcippus* F. (10) ; *Cœnides orma* Plötz (10)

### Hétéroptères

*Carpocoris fuscispinus* Boh. (8) ; *Pentatoma rufipes L.* (8)
*Gerris costae* (Herrich-Schaeffer) (18).

Nous avons tenu compte dans ces expériences du fait que l'Insecte frais contient une quantité d'eau égale environ aux 2/3 de son poids total, et avons effectué nos macérations d'exemplaires séchés de façon à pouvoir comparer avec les chiffres obtenus sur des échantillons frais. Nous avons constaté certes que l'enzyme ne s'est pas manifestée de façon aussi importante que dans les expériences semblables sur Insectes frais, à des macérations équivalentes ; il a pu arriver aussi que nos recherches aboutissent à un résultat négatif alors que nous aurions eu un résultat positif avec du matériel frais. C'est pourquoi nous conclurons avec prudence ces recherches sur des Insectes séchés. Nous reviendrons et insisterons sur ce point en terminant notre étude sur la seconde enzyme de la chaîne de l'uricolyse : l'allantoïnase.

## DISCUSSION GÉNÉRALE ET CONCLUSION SUR L'URICASE

Nous avons vu que l'enzyme uricase, clé de l'uricolyse, responsable de la disparition de l'acide urique, est très répandue chez les Insectes, contrairement à ce qui est universellement affirmé. On note toutefois certaines irrégularités dans sa répartition.

Ayant recherché l'uricase chez quatre espèces d'Insectes, et n'ayant pu l'y mettre en évidence, Florkin et Duchateau (1943) avaient conclu que les Insectes de manière générale, et à l'exception des Diptères, excrètent sous forme d'acide urique, à la fois leur azote d'origine purique et l'azote d'origine protidique. A leur suite, tous les auteurs, unanimes, considèrent les Insectes comme uricotéliques.

A l'encontre de tous, nous affirmons que de nombreux Insectes, en dehors des Diptères, ne sont pas uricotéliques ; beaucoup d'entre eux sont au moins partiellement uricolytiques. Nous préciserons ultérieurement l'importance de cette uricolyse.

Quant aux Diptères, cités comme capables de dégrader une partie de leur acide urique en allantoïne, tous n'ont pas en fait le même métabolisme. L'uricase a été signalée chez trois espèces de Mouches : chez *Musca domestica* et *Musca carnaria* (Truszkowski et Chajkinowna, 1935) et chez *Lucilia sericata* (Brown, 1938). A partir des résultats fournis par ces trois espèces, on en a déduit : « Les Diptères sont uricolytiques ! »

Nous verrons de plus en plus à quelles conclusions erronées peuvent conduire de telles généralisations hâtives effectuées à partir de quelques observations isolées. Dans le cas présent, il semble bien que seules les Mouches à larves créophages soient uricolytiques. Nous avons retrouvé l'uricase chez *Calliphora erythocephala*. Mais

tous les autres Brachycères examinés en sont dépourvus : c'est en effet le cas de *Tabanus bromius, Scatophaga stercoraria, Pollenia rudis, Drosophila melanogaster, Melophagus ovinus.* Nous avons retrouvé l'enzyme chez divers Nématocères (*Tipula, Bibio,* larves de *Chironomus*).

Nous n'avons tiré argument dans ce travail que des résultats positifs. Le grand nombre de ces résultats, dans certains ordres du moins ou de façon plus restreinte dans quelques familles, nous autorisera à conclure sur les possibilités uricolytiques des Insectes intéressés.

Nous sommes beaucoup plus prudent en présence des résultats négatifs. Il est extrêmement probable que si l'enzyme ne s'est pas manifestée chez certains sujets, c'est qu'effectivement elle ne s'y trouve pas.

Il n'est pas impossible toutefois que dans certains cas le protocole employé dans la recherche de l'uricase soit mis en défaut, conduisant à des résultats négatifs, alors que réellement il existe de l'uricase chez les sujets étudiés. C'est à la suite de l'observation de certains des résultats obtenus lors du calcul de l'activité comparée de l'uricase que nous avons envisagé une telle hypothèse. Nous avons remarqué en effet que, dans divers cas, le taux d'acide urique détruit en présence de macérations concentrées est très faible ou nul, et nous nous demandions si des substances inhibitrices apportées par l'Insecte mais n'agissant qu'à partir d'une certaine concentration n'en sont pas responsables... Ne peut-on pas se demander de même si certains résultats totalement négatifs ne sont pas dus, de la même façon, à l'action inhibitrice de corps présents dans l'Insecte, mais mis en contact avec l'enzyme seulement dans nos macérations, et l'inhibant alors totalement. Une semblable hypothèse ne pourra certes être valablement envisagée que dans le cas où l'Insecte qui semble dépourvu d'uricase contient de l'allantoïne ou en élimine dans ses excreta.

Nous avons cherché à localiser l'uricase dans le corps de l'Insecte, nous demandant quel organe doit être considéré comme responsable de son élaboration. Nous avons en général retrouvé l'enzyme dans tous les tissus, mais nous avons remarqué qu'elle est beaucoup plus abondante dans les tubes de Malpighi. Il ne nous a pas été possible de déceler le siège de sa sécrétion.

A partir des sujets les mieux pourvus en uricase, nous avons préparé des poudres enzymatiques impures, mais douées d'une grande activité uricolytique, et grâce auxquelles nous avons pu constater que l'activité de l'uricase des Insectes est affectée par certains facteurs de façon différente selon les espèces dont elle provient. Si le pH optimum pour l'action de l'enzyme reste dans tous les cas de 9,2, la température optimale varie selon les origines

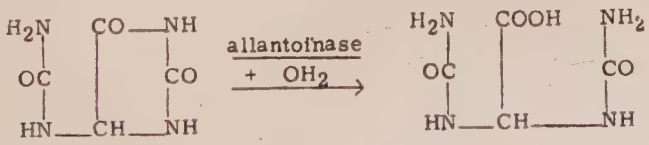
de l'enzyme de 23° à 38°, mais se situe le plus souvent à 28°. Devant de telles variations nous nous sommes même demandé si l'uricase a bien exactement la même structure dans tous les cas examinés.

Par suite de l'impureté de nos poudres enzymatiques, nous n'avons pu approfondir l'étude des caractéristiques de l'uricase des Insectes. Mais nous espérons, grâce à la haute teneur en enzyme de certaines espèces et à sa conservation facile, pouvoir rassembler un matériel assez abondant pour en tirer une préparation enzymatique purifiée, qui nous permette de reprendre et de préciser ses propriétés.

Dans ce travail sur l'uricase, nous avons successivement employé deux méthodes différentes. Lorsque nous recherchions sa répartition et comparions son activité, nous mettions en évidence le catabolite formé, l'allantoïne ; par contre, dans les études effectuées au moyen des poudres uricasiques, nous notions la disparition de l'acide urique des milieux en expérience. La concordance totale entre les résultats fournis par ces deux méthodes nous permet d'affirmer encore avec plus de certitude la présence de l'uricase chez les Insectes cités.

## II. — L'ALLANTOINASE

Wiechowski (1912) considérait l'allantoïne comme le dernier terme possible du catabolisme des nucléoprotéines. Nemec (1920) après avoir rappelé que déjà Almagia, Cippolina, Schittenhelm avaient émis l'idée d'une destruction ultérieure de l'allantoïne, est d'avis que ce composé est transformé directement en urée et en acide glyoxylique grâce à une enzyme hypothétique qu'il nomme « allantoïnase ». Przylecki (1925) dans un long travail consacré à l'allantoïnase, considère que cette enzyme transforme l'allantoïne en un corps non identifié, intermédiaire entre l'allantoïne et l'urée. Fosse et Brunel (1929) ont fait la lumière sur cette transformation ; ils ont suggéré que le terme d'allantoïnase soit réservé à l'hydratase qui, fixant une molécule d'eau sur l'allantoïne, la transforme en acide allantoïque, selon le schéma :




L'allantoïnase est une enzyme assez répandue tant dans le règne végétal que dans le règne animal. On la trouve chez de nombreux Vertébrés : Poissons, Amphibiens (Przylecki ; Fosse et Brunel, 1929 ; Brunel, 1937 ; Florkin et Duchateau, 1943), quelques Mammifères (Mourot, 1938) ; et malgré les affirmations contraires de Przylecki (1926), elle existe aussi chez beaucoup d'Invertébrés : Echinodermes, Sipunculiens, Mollusques, Crustacés Décapodes (Fosse et Brunel ; Florkin et Duchateau ; Brunel, 1938 ; Brunel et Fischer, 1954). Elle a été signalée chez divers Insectes, Orthoptères et Coléoptères par Rocco (1936, 1938) et Manunta la cite chez la chenille de *Bombyx mori* L. à certains stades larvaires (1949). Razet (1952, 1953, 1954, 1956, 1957) affirme son existence chez d'assez nombreux autres Insectes.

## RECHERCHE GÉNÉRALE DE L'ALLANTOINASE CHEZ LES INSECTES

### A. — Recherche qualitative

Le protocole employé dans cette série de recherches a été inspiré des indications de Brunel (1949) à propos de matériel végétal : une macération des tissus de l'Insecte à étudier est préparée en les broyant en présence de solution tampon phosphate soude de Clark et Lubs de pH 7,3 ; après quelques minutes de contact on élimine les gros fragments par centrifugation ou filtration sur coton.

On prépare aussi une solution d'allantoïne M/500 dans le même tampon, soit :

| | |
|---|---|
| Allantoïne ..... | 15,8 mg |
| Solution tampon ..... | 50,0 ml |

On place alors au bain-marie à 38° les milieux de composition suivante :

| Milieux | E | T |
|---|---|---|
| Macération ..... | 2 | 2 ml |
| Solution tampon ..... | 2 | — ml |
| Allantoïne M/500 ..... | — | 2 ml |
| Toluène ..... | 2 | 2 gttes |

Après 1 heure, les solutions T et E sont déféquées. Puis, après acidification avec ClH N, on effectue sur chacune d'elles la caractérisation de l'acide allantoïque. En cas de présence d'allantoïnase, on obtient en E la coloration rouge caractéristique. Il peut arriver qu'une semblable coloration se développe en T, mais alors on ne pourra conclure à la présence d'allantoïnase que si la coloration montre en E une intensité plus grande.

De cette façon, nous avons cherché à connaître la répartition de l'allantoïnase chez les Insectes, et avons observé sa présence chez un grand nombre d'entre eux. Tous les résultats de ces recherches sont consignés dans le tableau général cité en annexe.

L'allantoïnase se rencontre chez des Aptérygotes (Collemboles) et chez beaucoup de Ptérygotes : elle est possédée par de nombreux Polynéoptères (divers Dictyoptères, Plécoptères, Chéleutoptères, Dermaptères, et la plupart des Orthoptères) ; elle est surtout très répandue chez les Oligonéoptères : Coléoptères (*Heterogastra* des familles des Malacodermes et des Elatérides, *Adephaga* en majeure partie), Mégaloptères, Plannipennes, Hyménoptères (Symphytes et Cynipides), Diptères Nématocères (familles des

Tipulides et des Bibionides), Mécoptères, Trichoptères, et la plus grande partie des Lépidoptères.

Par contre, on ne trouve pas cette enzyme chez les Thysanoures, chez les Paléoptères (Ephéméroptères, Odonates), chez un certain nombre de Polynéoptères (quelques Dictyoptères, les Isoptères, certains Chéleutoptères et Orthoptères), chez presque tous les Paranéoptères étudiés (Hétéroptères, Homoptères), chez de nombreux Coléoptères (Phytophages surtout), chez la plupart des Hyménoptères pétiolés, les Diptères (Brachycères et une partie des Nématocères) et quelques Lépidoptères.

### B. — Activité comparée

Désirant comparer l'activité allantoïnasique des Insectes afin de sélectionner en vue d'études plus approfondies les plus riches d'entre eux, nous avons effectué, comme lors de l'étude de l'activité de l'uricase, un broyat des animaux étudiés dans une quantité de solution tampon calculée de sorte à obtenir, suivant la quantité de matériel disponible, une macération à 1/5e, à 1/10e ou à 1/20e. Cette macération a été centrifugée pour éliminer les gros fragments. On y a ajouté la solution fraîche d'allantoïne M/500 effectuée dans la même solution tampon.

Si nous partons d'une macération à 1/5e, nous mettrons donc au bain-marie à 38° les milieux de composition suivante :

| Milieux | T | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|---|
| Macération ..... | 2 | 1 | 2 | 4 ml |
| Allantoïne M/500 ..... | – | 4 | 4 | 4 ml |
| Solution tampon ..... | 6 | 3 | 2 | – ml |
| Toluène ..... | 2 | 2 | 2 | 2 gttes |

ce qui nous donne des solutions d'allantoïne M/1 000 contenant 1/10e, 1/20e ou 1/40e d'Insecte.

Après 1 heure, on prélève une partie aliquote (2 ml) qu'on amène après défécation et acidification avec ClH N, à un volume donné (10, 20 ou 50 ml). On cherche à y caractériser l'acide allantoïque par la méthode habituelle. L'intensité de la coloration obtenue est mesurée à l'électrophotomètre et le titre en acide allantoïque est connu immédiatement par référence à la courbe étalon. On effectue alors, s'il y a lieu, une correction en soustrayant le chiffre apporté par le témoin ; on obtient la quantité d'allantoïne transformée en multipliant le résultat obtenu par le rapport :

$$\frac{\text{allantoïne}}{\text{acide allantoïque}} = \frac{158}{176} = 0{,}8977 ;$$

et en multipliant ce résultat par $\frac{100}{158}$ on connaît le pourcentage d'allantoïne détruite ; nous le désignerons par la lettre A.

Ainsi que lors de l'étude de l'uricase, nous avons en général effectué nos recherches sur des imagos. Nous ne signalons donc de façon spéciale que les cas où nous avons employé des sujets en cours de développement (état larvaire ou nymphal). Dans le cas de larves ou chenilles, nous ne les avons utilisées ici qu'au dernier stade.

Nous allons indiquer sous les rubriques 1, 2, 3, les pourcentages respectifs d'allantoïne transformée en présence des macérations à 1/10e, à 1/20e ou à 1/40e. Nous faisons remarquer que les chiffres ainsi obtenus ne sauraient être considérés comme ayant une valeur absolue ; ils fournissent seulement une indication sur les possibilités des Insectes cités.

## *SOUS-CLASSE DES APTÉRYGOTES*

| | Valeur de A : 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|
| **Ordre des Collemboles** | | | |
| *Xenylla velchii* Folsom | | 37,3 | |

## *SOUS-CLASSE DES PTÉRYGOTES*

### SECTION DES POLYNÉOPTÈRES

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Ordre des Dictyoptères** | | | |
| *Blabera craniifer* Burm. ♂ | 16,1 | 10,5 | 8,8 |
| » » ♀ | 21,5 | 11,6 | 6,1 |
| *Periplaneta americana* L. ♂ | 8,1 | 1,4 | 0,0 |
| » » ♀ | 9,9 | 5,9 | 1,0 |
| **Ordre des Chéleutoptères** | | | |
| *Carausius morosus* Br. | | 42,7 | |
| *Sypylloïdea sypylus* Westwood | 30,1 | 11,7 | 11,5 |
| **Ordre des Orthoptères** | | | |
| **Sous-ordre des Ensifères** | | | |
| *Phaneroptera falcata* Poda | | 11,4 | 6,1 |
| *Conocephalus dorsalis* Latr. ♂ | | 22,6 | 18,1 |
| » » ♀ | | 14,7 | 10,2 |
| *Conocephalus fuscus* F. ♂ | | 13,6 | 9,3 |
| » » ♀ | | 14,7 | 8,1 |
| *Tettigonia viridissima* L. | | 16,0 | 9,7 |
| *Platycleis denticulata* Panz. | 13,9 | 10,3 | 5,3 |
| *Epphippiger epphippiger* Fiebig. | 12,7 | 9,0 | 6,1 |
| *Gryllus bimaculatus* de Geer ♂ | | | 12,5 |
| » » ♀ | | | 9,3 |
| *Acheta domestica* L. ♂ | 23,9 | 23,6 | 13,3 |
| » » ♀ | 33,4 | 25,8 | 21,9 |

| Sous-ordre des Coelifères | Valeur de A : 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|
| *Œdipoda cœrulescens* L. | 33,6 | 13,8 | 9,3 |
| *Chortippus vagans* Eversm. | | 12,2 | 8,1 |
| *Schistocerca gregaria* Forsk. ♂ | 24,0 | 16,8 | 12,2 |
| » » ♀ | 20,7 | 12,7 | 10,7 |
| *Locusta migratoria* L. ♂ | 9,4 | 7,5 | 8,3 |
| » » ♀ | 4,3 | 3,0 | 3,9 |

## Ordre des Dermaptères

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Forficula auricularia* L. | | | 12,0 |

# SECTION DES OLIGONÉOPTÈRES

## Ordre des Coléoptères

| Sous-ordre des Heterogastra | | | |
|---|---|---|---|
| *Rhagonycha fulva* Scop. | | 20,0 | 10,5 |
| *Cantharis fusca* L. | | | 10,2 |
| *Cantharis livida* L. | | | 9,0 |
| *Athous subfuscus* O.F. Müll. | | | 15,2 |
| *Athous vittatus* F. | | | 27,0 |
| *Adelocera murina* L. | | | 11,1 |
| *Cidnopus pilosus* Leske | | 29,2 | 19,7 |
| *Agriotes pilosus* Panz. | | | 6,4 |
| **Sous-ordre des Haplogastra** | | | |
| *Dorcus parallelipipedus* L. | | 4,0 | 2,4 |
| *Melolontha vulgaris* F. larves | 5,5 | | |
| » » imagos | 3,6 | 0,0 | 0,0 |
| **Sous-ordre des Adephaga** | | | |
| *Cicindela campestris* L. | | | 9,0 |
| *Hadrocarabus problematicus* Herbst. | 14,6 | 8,6 | 5,5 |
| *Chaetocarabus intricatus* L. ♂ | | 13,1 | 10,6 |
| » » ♀ | | 13,1 | 8,8 |
| *Cychrus caraboïdes* L. | | | 23,8 |
| *Dytiscus semisulcatus* Müll. ♂ | 47,7 | 57,5 | 38,5 |
| » » ♀ | 59,8 | 53,6 | 49,5 |
| *Dytiscus marginalis* L. ♂ | 34,0 | 22,4 | 15,5 |
| » » ♀ | 31,0 | 15,3 | 7,8 |
| *Hydaticus transversalis* L. | | | 32,6 |
| *Colymbetes fuscus* L. | 16,8 | 14,1 | 7,9 |
| *Agabus bipustulatus* L. | | | 3,9 |
| *Laccophilus minutus* Marsch. | | | 34,4 |
| *Gyrinus substriatus* Steph. | | 1,4 | 0,9 |

| | Valeur de A : | | |
|---|---|---|---|
| **Sous-ordre des Symphytes** | 1 | 2 | 3 |
| *Sirex juvencus* L. | | | 2,0 |
| *Hemichroa crocea* Geoff., larves | 1,2 | 0,0 | 1,7 |
| *Croesus septentrionalis* L., larves | 4,0 | 3,6 | 0,9 |
| *Pteronidea ribesi* Scop., larves | | | 1,8 |
| *Pteronidea salicis* L., larves | 17,4 | 17,4 | 7,4 |
| *Diprion pini* L., larves | 19,8 | 20,2 | 10,3 |
| **Sous-ordre des Térébrants** | | | |
| *Biorrhiza aptera* Bosc. | | | 5,0 |
| *Biorrhiza pallida* Oliv. | | 4,5 | 3,8 |
| **Sous-ordre des Aculéates** | | | |
| *Formica rufa* L., nymphes | | | 8,4 |
| *Vespula media* de Geer. | | | 3,1 |
| **Ordre des Mégaloptères** | | | |
| *Sialis flavilatera* L., larves | | 17,6 | 13,6 |
| » » imagos | | 14,0 | 10,0 |
| **Ordre des Plannipennes** | | | |
| *Chrysopa vulgaris* L. | | | 21,8 |
| **Ordre des Mécoptères** | | | |
| *Panorpa communis* L. | | 32,2 | 16,1 |
| **Ordre des Trichoptères** | | | |
| *Mystacides azurea* L. | | | 12,0 |
| *Grammotaulius atomarius* Fab. | | | 23,9 |
| *Chaetopteryx villosa* Fab., larves | | | 3,5 |
| **Ordre des Diptères** | | | |
| **Sous-ordre des Nématocères** | | | |
| *Pacchyrrhina maculata* Meig. | | | 23,5 |
| *Tipula truncorum* Meig. | | 50,0 | 27,8 |
| *Tipula oleracea* L. | | 30,0 | 20,7 |
| *Tipula pagana* Meig. | | 48,1 | 28,0 |
| *Tipula luteipennis* Meig. | | | 24,7 |
| *Tipula paludosa* Meig. | 47,3 | 57,9 | 46,2 |
| *Tipula sp.* larves | | 6,2 | |
| *Bibio marci* L., larves | | 19,0 | |
| » » imagos | | | 2,0 |

## Ordre des Lépidoptères

| | Valeur de A : 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|
| **Super-famille des Tineoidea** | | | |
| *Aegeria apiformis* Cl. chenilles | | | 25,4 |
| » » imagos | 23,3 | 10,8 | 7,3 |
| **Super-famille des Psychoidea** | | | |
| *Zygaena angelicae* O. | | 15,7 | 10,9 |
| *Zygaena trifolii* Esp. | | | 10,0 |
| **Super-famille des Bombycoïdea** | | | |
| *Bombyx mori* L., chenilles | 8,6 | | |
| *Cosmotriche potatoria* L., chenilles | | 15,6 | 6,2 |
| *Gastropacha quercifolia* L., chenilles | 36,0 | 17,0 | 12,8 |
| *Lasiocampa trifolii* Esp., chenilles | 18,7 | 13,6 | 11,6 |
| *Lasiocampa quercus* L., chenilles | 25,5 | 18,5 | 9,8 |
| *Malacosoma neustria* L., chenilles | | | 5,0 |
| **Super-famille des Papilionoidea** | | | |
| *Pieris brassicae* L., chenilles | 40,9 | 13,5 | 10,1 |
| » » chrysalides | | | 26,7 |
| » » imagos | | | 20,4 |
| *Pieris rapae* L. | | | 8,8 |
| *Colias croceus* Foucr. | | | 8,2 |
| *Gonepteryx rhamni* L. | | | 9,0 |
| *Vanessa atalanta* L. | | 98,8 | 31,4 |
| *Vanessa io* L., chenilles | | | 44,5 |
| » » chrysalides | | | 46,1 |
| » » imagos | | | 40,4 |
| *Aglais urticae* L., chenilles | 45,8 | 56,4 | 45,7 |
| » » chrysalides | | | 26,7 |
| » » imagos | | | 20,4 |
| *Satyrus semele* L. | | | 10,2 |
| *Pararge megera* L. | | | 18,5 |
| *Pararge egeria* L. | | 49,2 | 27,1 |
| *Coenonympha pamphilus* L. | | | 18,6 |
| *Heodes phlaeas* L. | | | 17,2 |
| *Polyommatus icarus* Rott. | | 18,2 | 9,5 |
| **Super-famille des Geometroïdea** | | | |
| *Abraxas grossulariata* L., chenilles | | 3,1 | |
| » » chrysalides | | | 4,5 |
| » » imagos | | | 5,2 |
| **Super-famille des Noctuoidea** | | | |
| *Arctia caja* L., chenilles | | 34,6 | 28,6 |
| *Tyria jacobaeae* L., chenilles | 36,1 | 34,7 | 28,6 |
| *Euxoa segetum* Schiff., chenilles | | | 7,8 |

| | Valeur de A : 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|
| *Agrotis comes* Tr., chenilles | | | 9,7 |
| » » imagos | | | 13,8 |
| *Agrotis pronuba* L., chenilles | | | 5,9 |
| » » imagos | | | 9,6 |
| *Agrotis xanthographa* E. | | | 17,7 |
| *Agrotis ypsilon* Rott., chenilles | | | 4,2 |
| *Lycophotia saucia* Hb. | | 51,3 | 34,3 |
| *Mammestra brassicae* L., chenilles | | | 12,0 |
| » » chrysalides | | | 16,9 |
| *Cuculia verbasci* L., chenilles | | | 2,2 |
| *Rhyzothype flammea* Esp. | | 27,9 | 17,7 |
| *Conistra vaccinii* L. | | | 14,2 |
| *Amathes circellaris* Hfn. | | | 3,4 |
| *Amathes lota* Cl. | | | 17,2 |
| *Amathes lychnidis* Schiff. | | | 27,0 |
| *Amathes macilenta* Hb. | | | 5,0 |
| *Trigonophora meticulosa* L., chenilles | 76,2 | 42,1 | 21,1 |
| » » imagos | | | 10,3 |
| *Phytometra gamma* L. | | | 26,4 |
| *Euproctis phaeorrhaea* Hw., chenilles | | 46,1 | |
| *Thaumetopaea pythiocampa* Schiff., chenilles | | 43,8 | |

### C. — Discussion des résultats

Des résultats ainsi obtenus quant à la répartition et l'activité comparée de l'allantoïnase chez les Insectes, nous tirerons la conclusion qui s'impose : non seulement l'uricolyse, débutée grâce à l'uricase, existe chez les Insectes, mais très souvent elle n'en reste pas à son premier chaînon ; dans de nombreux cas en effet une allantoïnase très active lui permet de se poursuivre et d'atteindre le stade acide allantoïque.

Cette seconde enzyme de la chaîne de l'uricolyse est moins répandue que la première, l'uricase, mais sa répartition est tout aussi irrégulière. Dans les Ordres où elle se rencontre, il existe en effet de nombreuses espèces qui ne la possèdent pas.

Ainsi que lors de l'étude de l'uricase, nous avons recherché si cette activité allantoïnasique ne montre pas, dans une espèce donnée, certaines variations.

Nous avons généralement noté peu de différences dans l'activité allantoïnasique entre les deux sexes d'une même espèce. Cependant chez certaines espèces, des résultats plus importants sont obtenus en présence de macérations de mâles (*Conocephalus dorsalis, Gryllus bimaculatus, Schistocerca gregaria, Locusta migratoria, Dytiscus marginalis*) ; chez d'autres Insectes par contre, c'est la macération de femelles qui semble la plus active (*Acheta domestica, Blabera craniifer*).

Dans quelques cas, nous avons pu mesurer l'activité allan-

toïnasique d'Holométaboles aux divers stades de leur vie : stade larvaire, nymphal ou imaginal. Le plus souvent, les chiffres obtenus sont du même ordre de grandeur. Notons toutefois que l'allantoïnase semble plus active au stade larvaire chez les Lépidoptères *Aegeria, Aglais urticae, Trigonophora* ; il semble en être de même chez le Diptère *Bibio marci.* On observe le contraire chez les Diptères du genre *Tipula,* chez les Lépidoptères *Agrotis.* Mais, ainsi que nous l'avons fait remarquer à propos de l'uricase, nos observations sont trop fragmentaires, et des recherches nombreuses devront encore être effectuées sur ce point.

Dans la plupart des cas, nous n'avons pu suivre l'activité de l'allantoïnase en fonction des diverses saisons, car les Insectes qui en sont pourvus ont généralement une vie imaginale brève, et, pour la majorité d'entre eux, ne peuvent être rencontrés que pendant une période limitée de la saison estivale. Toutefois, nous avons remarqué une allantoïnase plus active chez certains exemplaires capturés en été ou en automne et se rapportant à des espèces se reproduisant au printemps suivant après avoir hiverné. Signalons spécialement à ce sujet les résultats consignés dans le tableau qui précède et concernant les espèces : *Dytiscus semisulcatus, Vanessa atalanta, Pararge egeria, Lycophotia saucia.* De même *Chaetocarabus intricatus* possède une allantoïnase assez active pendant la saison qui suit son éclosion imaginale, mais cette activité diminue beaucoup pendant l'hiver et le printemps suivant ; en employant le protocole exposé ci-dessus, on obtient en juillet une transformation du substrat atteignant 23 % après une heure au moyen d'une macération à 1/20e, contre 13 % en janvier ou en avril-mai. Nous avons déjà signalé de semblables observations à propos de l'uricase, et avons alors émis l'hypothèse d'un métabolisme plus intense chez ces espèces avant l'hiver, en vue de l'élaboration de substances de réserve. Cette explication, si elle s'avère exacte, est valable certes pour l'allantoïnase comme pour l'uricase. Il convient toutefois de remarquer qu'une telle augmentation de l'activité de l'allantoïnase à l'automne ne semble pas marquée à ce point chez toutes les espèces qui en sont normalement pourvues.

Quant aux Insectes qui se reproduisent puis meurent avant l'arrivée de l'hiver, ils permettent aussi à ce point de vue quelques observations. Le froid les fait peu à peu disparaître, mais les derniers survivants d'entre eux possèdent une allantoïnase beaucoup moins active. C'est ainsi qu'une macération à 1/20e de *Tipula paludosa* effectuée pendant l'été et placée en présence d'allantoïne (M/1 000) hydrate normalement en 1 heure 55 % de ce substrat ; mais elle n'est plus capable de n'en transformer que de 30 à 35 % si les sujets utilisés sont capturés après l'arrivée des premières gelées.

En règle générale, il semble bien que le froid amène une diminution importante de l'activité de l'allantoïnase.

Nous observons que la quantité d'allantoïne détruite n'est pas, dans de nombreux cas du moins, proportionnelle à la concentration de la macération, et les chiffres obtenus en présence de macération à 1/10e ne sont guère supérieurs, le plus souvent, à ceux fournis par la macération à 1/20e. Ils sont même parfois inférieurs. Nous avons déjà observé semblable phénomène dans l'étude de l'uricase, et ici aussi, tout se passe comme si certaines substances inhibitrices, à l'action peu importante dans les macérations diluées, atteignaient, dans les macérations à 1/10e, une concentration suffisante pour inhiber, au moins en partie, l'action de l'allantoïnase.

Nous avons repris cette question avec des macérations de chenilles de *Tyria jacobaeae* de concentrations étagées de 1/10e en 1/10e depuis 1/10e jusqu'à 1/50e, et avons obtenu après 1 heure les résultats suivants :

| Macérations à | 1/10 | 1/20 | 1/30 | 1/40 | 1/50 |
|---|---|---|---|---|---|
| Allantoïne détruite % ... | 36,1 | 34,7 | 35,2 | 28,6 | 25,5 |

On remarque que les macérations à 1/10e, à 1/20e et à 1/30e fournissent des résultats équivalents. On note une légère diminution avec les macérations à 1/40e et à 1/50e, mais cette diminution est très faible, eu égard à la dilution très importante de la macération. On retrouve donc toujours, dans les macérations un peu concentrées, un phénomène d'inhibition de l'enzyme, sur lequel nous nous proposons de revenir ultérieurement.

Bien que répartie de façon plus restreinte que l'uricase, l'allantoïnase n'en est pas moins une enzyme encore très répandue chez les Insectes, particulièrement active même chez certains d'entre eux, et permettant à ceux qui la possèdent de transformer l'allantoïne en acide allantoïque. Peut-être certaines variations observées dans l'activité de cette enzyme peuvent-elles être considérées, ainsi que dans le cas de l'uricase, comme correspondant aux variations du métabolisme général.

## ESSAIS DE LOCALISATION DE L'ALLANTOINASE DES INSECTES

Nous avons cherché à comparer l'activité allantoïnasique des divers organes de quelques-uns des Insectes pourvus de cette enzyme.

Dans ce but, le sujet étudié a été disséqué avec soin ; ses divers organes ont été placés dans un erlenmeyer taré, renfermant 5 ml de solution tampon phosphate soude à pH 7,3 ; leur poids a été évalué ; on a ajouté ensuite 5 ml de solution d'allantoïne M/500 dans la solution tampon et 2 gouttes de toluène. Chaque erlenmeyer, soigneusement bouché, a été placé au bain-marie à 38°.

Après 3 heures de contact, on a recherché, pour chacun des milieux, la quantité d'acide allantoïque formée, et par suite, la quantité d'allantoïne transformée. Des corrections ont été apportées au moyen d'expériences semblables effectuées en remplaçant la solution d'allantoïne par la solution tampon seule. Afin de pouvoir comparer les résultats obtenus, nous avons, pour chaque cas, calculé ce qu'auraient été ces résultats avec 100 mg de tissu.

Les chiffres ainsi trouvés sont contenus dans le tableau suivant :

Allantoïne transformée (en mg par 100 mg d'organe)

| Insectes étudiés : | Tube digestif | Tubes Malpighi | Gonades | Hémolymphe + tissu adipeux | Reste |
|---|---|---|---|---|---|
| *Carausius morosus* ..... | 0,038 | 1,03 | 0,001 | 0,051 | 0,17 |
| *Blabera craniifer* ..... | 0,024 | 0,95 | 0,075 | 0,063 | 0,013 |
| *Schistocerca gregaria* ♂ .... | 0,14 | 1,54 | 0,26 | 0,08 | 0,03 |
| » » ♀ .... | 0,108 | 1,00 | 0,037 | 0,101 | 0,03 |
| *Gryllus bimaculatus* ♂ ..... | 0,10 | 5,21 | 0,28 | 0,59 | 0,10 |
| » » ♀ ..... | 0,11 | 9,74 | 0,17 | 0,52 | 0,05 |
| *Acheta domestica* ♂ ..... | 0,50 | 6,10 | 0,16 | 3,70 (1) | 0,22 |
| » » ♀ ..... | 0,27 | 5,41 | 0,33 | 1,70 | 0,17 |
| *Carabus intricatus* (2) ♂ .... | 0,61 | 3,10 | 0,39 | —— | 0,12 |
| » » ♀ .... | 0,07 | 3,14 | 0,24 | 0,19 | 0,07 |
| *Carabus problematicus* (2) ♂. | 0,46 | 3,17 | 0,31 | 0,51 | 0,11 |
| » » ♀. | 0,09 | 4,84 | 0,069 | 0,09 | 0,022 |
| *Carabus auronitens* (2) ♂ .. | 0,30 | 3,40 | 0,17 | 1,00 | 0,13 |
| » » ♀ .. | 0,92 | 4,97 | 0,63 | 0,80 | 0,104 |
| *Dytiscus pisanus* ♂ ..... | 0,80 | 3,08 | 0,16 | 0,16 | 0,015 |
| » » ♀ ..... | 0,20 | 2,31 | 0,22 | 0,25 | 0,038 |
| *Vanessa io chenilles* ..... | 0,58 | 18,3 | —— | 3,50 | 0,34 |
| *Agrotis comes* chenilles .... | 0,07 | 0,15 | —— | 0,13 | 0,101 |

Ces résultats nous montrent une activité allantoïnasique toujours plus marquée en présence des tubes de Malpighi. La différence est particulièrement importante dans les genres *Gryllus, Acheta, Schistocerca, Carabus, Dytiscus, Vanessa* ; elle est moins nette chez *Blabera, Agrotis.*

Les conclusions des expériences décrites précédemment nous obligent à interpréter ces résultats avec beaucoup de prudence. Nous savons en effet que la quantité d'allantoïne hydratée n'est pas nécessairement fonction de la concentration de la macération, et qu'elle peut même diminuer par suite de l'action probable de substances inhibitrices, si on augmente cette concentration. Néanmoins, et tout en gardant leur valeur à ces réserves, nous considérons comme permis de tirer argument des chiffres ci-dessus,

(1) Le tissu adipeux de ces Insectes est pratiquement inexistant ; sa place dans la cavité hémocœlienne est occupée par les kystes de la Grégarine *Diplocystis major* Cuénot ; ce sont ces kystes que nous avons mis en expérience ici. (Voir allantoïcase, p. 93).

(2) Pour des raisons de commodité, nous employerons désormais pour ces espèces le seul nom générique de *Carabus.*

surtout chez les espèces où les résultats obtenus en présence des tubes de Malpighi sont comparativement très élevés, pour admettre une accumulation certaine de l'enzyme dans ces tubes de Malpighi.

Nous avions déjà remarqué une semblable accumulation dans les tubes de Malpighi lors de l'étude de l'uricase ; dans certains des cas étudiés ci-dessus à propos de l'allantoïnase, cette accumulation est encore plus nettement indiquée. Il convient de remarquer que de telles observations ne prouvent pas que l'uricase et l'allantoïnase soient élaborées par les cellules malpighiennes. Etant donné la polarisation de ces cellules, polarisation qui les amène à évacuer leurs produits de sécrétion non vers la cavité hémocœlienne, mais vers la lumière du tube, on comprendrait assez difficilement la présence des enzymes dans le reste du corps, à moins d'admettre leur passage dans l'hémolymphe lors de la réabsorption de l'eau au niveau du rectum, ou, si l'Insecte en possède, au niveau des cryptonéphridies, l'hémolymphe les transportant alors dans tout l'organisme.

Il se pourrait aussi que les enzymes considérées soient secrétées par un autre organe, tel le tissu adipeux, qui les déverserait dans l'hémolymphe ; elles seraient réparties ensuite dans le corps de l'Insecte, imprégnant tous les tissus. La teneur du tissu adipeux en allantoïnase, telle qu'elle ressort des résultats ci-dessus, peut être considérée comme un argument en faveur de cette hypothèse, les cellules malpighiennes étant considérées alors comme douées seulement de la propriété de concentrer les enzymes de façon très importante.

## SUR QUELQUES FACTEURS AFFECTANT L'ACTION DE L'ALLANTOINASE

Quelques modalités de l'activité de l'allantoïnase des Insectes ont été déterminées en mesurant la quantité d'allantoïne détruite sous certaines conditions grâce à l'action de poudres enzymatiques d'Insectes riches en l'enzyme considérée. Nous avons utilisé dans ce but les poudres $P_1$, $P_2$, $P_{11}$ et $P_{21}$ dont nous avons précédemment exposé les méthodes de préparation. Toutefois nous insistons sur le fait que ces poudres n'ont pas, et de loin, un degré de purification permettant une étude approfondie de l'enzyme.

### A. — Activité comparée de diverses poudres enzymatiques

Nous avons placé au bain-marie à 38° une solution d'allantoïne M/1 000 en solution tampon phosphate-soude à pH 7,3, et y

avons ajouté la poudre enzymatique à la concentration de 0,5, 1, ou 2 %. Après 5 heures, nous avons évalué la proportion d'allantoïne transformée, selon le protocole déjà décrit, et après avoir effectué, s'il y a lieu, les corrections nécessaires, nous avons obtenu les chiffres ci-après :

| | | Allantoïne transformée en mg par litre en présence des poudres | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $P_1$ | | $P_2$ | | | $P_{11}$ | $P_{21}$ |
| à la concentration % de | | 0,5 | 1 | 0,5 | 1 | 2 | 1 | 1 |
| *Schistocerca gregaria* | ♂ | 91,6 | 110,6 | 48,9 | 63,2 | 75,8 | 93,2 | 80,5 |
| » » | ♀ | 75,8 | 91,6 | 28,4 | 36,3 | 51,5 | 64,7 | 56,8 |

Ces résultats nous ont amené à n'utiliser en général que la poudre $P_1$, dont l'activité est très appréciable à une faible dilution. Nous avons donc pratiquement abandonné la poudre $P_2$, qui est moins active et moins homogène. Il en avait été de même lors de l'étude de l'uricase.

La poudre acétonique la plus active est celle qui est obtenue à partir d'animaux frais ($P_1$). Une redissolution de cette poudre dans le tampon, suivie d'une nouvelle précipitation par l'acétone, donne une poudre nettement moins active ($P_{11}$). La poudre $P_{21}$, obtenue en reprenant de la même façon la poudre $P_2$, est encore moins active.

Nous remarquons que les poudres des *Schistocerca* mâles sont plus actives que celles provenant des femelles. On observe le contraire avec le matériel élaboré à partir de *Acheta domestica* et *Carabus intricatus*. En ce qui concerne *Schistocerca* et *Acheta* ces faits concordent avec nos observations précédentes, effectuées à partir d'Insectes frais ; il n'en est pas de même à propos de *Carabus*, dont les macérations fraîches de mâles et de femelles ont à peu près la même activité allantoïnolytique.

### B. — Recherche du pH optimum

Nous avons vu que l'uricase des Insectes présente son maximum d'activité en solution tamponnée à pH 9,2 - 9,3. Pour l'allantoïnase on considère habituellement que le pH optimum se trouve aux environs de 7,3. Nous allons rechercher ce pH optimum pour l'allantoïnase des Insectes, en utilisant les solutions tampons phosphate soude de Clark et Lubs.

Nous avons adopté dans ce but le protocole expérimental suivant :

| | |
|---|---|
| Poudre enzymatique ..... | 10 ou 30 mg |
| Allantoïne ..... | 3 ml |
| Solution tampon à pH variable .. | 3 ml |
| Toluène ..... | 1 g$^{tte}$ |

Nous avons laissé le tout 5 heures au bain-marie à 38°, puis avons recherché l'acide allantoïque formé. Nous avons retranché éventuellement du chiffre trouvé la quantité d'acide allantoïque présente dans la poudre enzymatique d'Insectes et évaluée au début de l'expérience. Nous avons aussi vérifié la solution d'allantoïne elle-même en fin d'expérience, aux divers pH indiqués. Brunel fait en effet observer que l'allantoïne tend à se transformer spontanément en acide allantoïque, sans intervention enzymatique, lorsque le pH atteint ou dépasse 7,6. Nous avons aussi remarqué ce fait, et en avons tenu compte dans l'évaluation de nos résultats.

Dans la plupart des cas, nous constatons que l'allantoïnase des Insectes présente l'activité la plus importante au pH 7,7. Quelques-uns des résultats ainsi obtenus sont rapportés ci-après ou traduits dans les courbes de la fig. 8.

| | | | Allantoïne transformée en mg aux pH de : | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 6,8 | 7,1 | 7,3 | 7,5 | 7,6 | 7,7 | 7,8 | 7,9 |
| *Schistocerca gregaria* | | ♂ | 0,72 | 1,14 | 1,44 | 1,54 | 1,58 | 1,73 | 1,56 | 1,39 |
| » | » | ♀ | 0,62 | 0,68 | 0,95 | 1,08 | 1,14 | 1,38 | 1,30 | 1,18 |

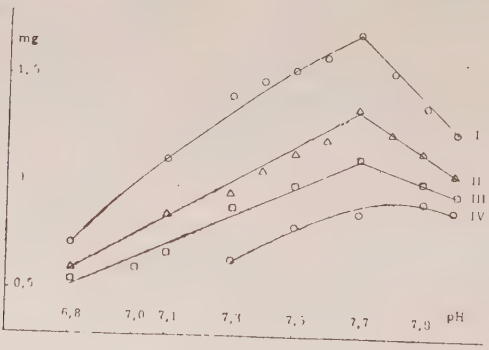



Fig. 8. — Allantoïne détruite, en mg, par l'allantoïnase de *Schistocerca gregaria* ♂ (I), *Schistocerca gregaria* ♀ (II), *Locusta migratoria* ♂ (III), *Carabus intricatus* (IV), en fonction du pH.

Nous avons obtenu des résultats semblables à propos de l'allantoïnase des Orthoptères *Acheta domestica* ♂ et ♀, *Locusta migratoria*, du Diptère *Tipula paludosa*, des Lépidoptères *Pieris brassicae* (chenilles), *Aglais urticae* (chenilles et imagos).

Le Coléoptère *Carabus intricatus* semble faire exception. L'allantoïnase de cet Insecte présente son maximum d'activité au pH 7,9, comme le prouvent les chiffres ci-après :

| | | Allantoïne transformée en mg aux pH de : | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 7,3 | 7,5 | 7,7 | 7,9 | 8,0 |
| *Carabus intricatus* | ♂ | 0,66 | 0,81 | 0,87 | 0,95 | 0,90 |
| » | ♀ | 0,86 | 0,97 | 1,10 | 1,13 | 1,08 |

Dans tous les cas, l'allantoïnase des Insectes est caractérisée par un pH optimum différent de celui qui est indiqué habituellement pour cette enzyme. Brunel (1949), considère en effet que ce pH optimum est normalement situé aux environs de 7,3. Il a toutefois observé des chiffres plus élevés : 7,6 chez certains champignons, et 7,5 à 7,6 chez les Sélaciens. Mais jusqu'ici on n'a jamais signalé, à notre connaissance, de cas où le pH optimum de l'allantoïnase dépasse 7,6. Les valeurs trouvées chez les Insectes méritent donc une attention spéciale.

On retiendra aussi tout spécialement le cas de *Carabus intricatus*. La question se pose de savoir si le déplacement observé du pH optimum de l'allantoïnase est spécial à l'espèce étudiée, ou s'il est susceptible d'être retrouvé chez les autres Coléoptères pourvus d'allantoïnase. Nous nous proposons d'élucider ce point dès qu'un matériel suffisamment abondant nous le permettra.

Au pH optimum ainsi défini, nous avons comparé les quantités d'allantoïne transformées en présence de solutions tampons de composition différente, en utilisant le même protocole expérimental que ci-dessus.

Nous avons obtenu les chiffres ci-après :

| | | Allantoïne transformée en mg dans les tampons : | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Durée de l'expérience | Phosphate borax de Kolthoff | Phosphate ac. citrique de Mac Ilvaine | Acide borique carbonate de soude d'Atkins et Pantin | Phosphate soude de Clark et Lubs |
| *Schistocerca gregaria* | 5 h. | 1,37 | 1,65 | 1,05 | 1,73 |
| *Aglais urticae* (chenille) | 1/2 h. | 1,08 | 1,32 | 1,05 | 1,33 |

Les transformations les plus importantes sont obtenues avec la solution phosphate soude de Clark et Lubs. C'est cette solution que nous emploierons dans toutes nos expériences ultérieures. On notera toutefois que des résultats presque aussi importants sont observés avec la solution phosphate disodique-acide citrique de Mac Ilvaine. Nous avons d'ailleurs recherché si avec des solutions tampons de cette composition l'allantoïnase montre son maximum d'activité au même pH qu'avec les solutions phosphate soude. L'expérience conduite en présence de poudre $P_1$ de chenilles d'*Aglais* nous a prouvé qu'il en est ainsi.

Nous avons aussi vérifié que les macérations fraîches de *Schistocerca gregaria* et de *Tipula paludosa* transforment davantage d'allantoïne au pH 7,7.

### C. — Recherche de la température optimale

Recherchant la température la plus favorable à l'action de l'allantoïnase des Insectes, nous avons mis en expérience des milieux ainsi composés :

| | |
|---|---|
| Poudre enzymatique ..... | 5, 10, ou 20 mg |
| Allantoïne M/1 000 dans tampon à pH optimum ..... | 2 ml |
| Toluène ..... | 1 gtte |

A la fin de chaque expérience, nous avons recherché l'acide allantoïque formé, et après avoir effectué les corrections nécessaires, nous en avons déduit les quantités d'allantoïne transformées. Nous avons traduit dans des courbes (fig. 9-10) quelques-uns des résultats ainsi obtenus.

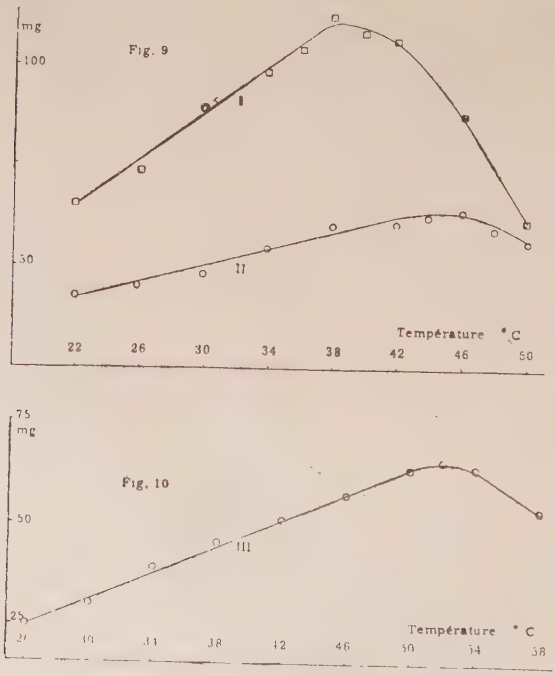



FIG. 9, 10. — Allantoïne détruite, en mg par litre, par l'allantoïnase de *Tipula paludosa* (I), *Carabus intricatus* (II), (après 5 h.), *Schistocerca gregaria* (III) (après 1 h.), en fonction de la température.

Chez un bon nombre des Insectes étudiés (*Acheta domestica* mâles, *Carabus intricatus, Aglais urticae,* chenilles et imagos), la température optimale est de 46 à 48°. Il convient de remarquer que c'est une température élevée. On admet habituellement que la température la plus favorable à l'action de l'allantoïnase est de 38°-40° (Brunel).

Il y a des exceptions. C'est ainsi que pour l'allantoïnase de *Tipula paludosa,* l'optimum de température est atteint à 38° ; par contre cet optimum est de 52°, avec la poudre enzymatique de *Schistocerca gregaria* mâles, et il atteint même 56°-58° avec celle des femelles de *Schistocerca* et d'*Acheta.*

En général, sauf chez *Tipula,* l'allantoïnase des Insectes présente donc son activité la plus importante à une température assez élevée. On remarque particulièrement le cas de l'allantoïnase des femelles de *Schistocerca* et d'*Acheta.*

Cet optimum de température a été vérifié soigneusement en faisant varier pH et quantités de poudre enzymatique utilisées. Les résultats ont été concordants. Toutefois, si on prolonge la durée des expériences, on remarque dans quelques cas un déplacement de l'optimum vers les températures plus basses. C'est là un phénomène connu, un peu marqué à propos de l'enzyme de *Carabus intricatus,* mais particulièrement important avec la poudre $P_1$ de *Schistocerca gregaria* mâles ; dans ce dernier cas, la température optimale qui est de 52° après 1 heure descend à 38° après 5 heures. Nous n'avons noté aucune observation semblable à propos de l'allantoïnase de *Tipula* ni d'*Aglais.*

Au point de vue de la température la plus favorable à son action, l'allantoïnase des Insectes semble donc douée de propriétés pouvant varier selon les espèces considérées.

### D. — Influence de la concentration en matériel enzymatique

Nous avons recherché ici le résultat de l'action d'une quantité croissante de poudre enzymatique sur un volume donné d'allantoïne M/1 000 en solution tampon. La durée de l'expérience, la température et le pH ont été choisis en fonction du matériel enzymatique.

A la fin de l'expérience, nous avons évalué la quantité d'acide allantoïque formée, effectué les corrections nécessaires et connu les quantités d'allantoïne transformées. Nous rassemblons dans le tableau ci-après et traduisons dans les courbes ci-jointes (fig. 11) les résultats ainsi obtenus :

| Matériel utilisé | | Durée | Allantoïne détruite, en mg par litre, en présence d'une concentration ‰ en poudre enzymatique de : 0,5 | 1,0 | 1,5 | 2,5 | 5,0 | 10,0 | 15,0 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Aglais urticae* | $P_1$ | 1/2 h | 32,5 | 50,8 | 62,3 | 77,8 | 85,0 | 79,0 | |
| *Aglais urticae* | $P_1$ | 5 h | 72,5 | 117,5 | 127,3 | 130,0 | 132,2 | 129,4 | 129,2 |
| *Tipula paludosa* | $P_1$ | 5 h | 26,2 | 48,1 | 68,7 | 88,4 | 111,1 | 128,7 | 128,7 |
| *Carabus intricatus* ♂ | $P_1$ | 5 h | 12,3 | 22,2 | 35,5 | 54,1 | 70,1 | 97,6 | 122,4 |
| *Schistocerca gregaria* ♂ | $P_1$ | 5 h | 34,7 | 70,3 | 76,6 | 87,0 | 97,8 | 113,9 | 116,7 |

La transformation de l'allantoïne est déjà appréciable avec une très petite quantité de poudre. Si on augmente cette teneur en matériel enzymatique, on observe, dans une gamme d'accroissement limitée et variable selon les espèces étudiées, une proportionnalité entre la transformation obtenue et la concentration en poudre. Mais

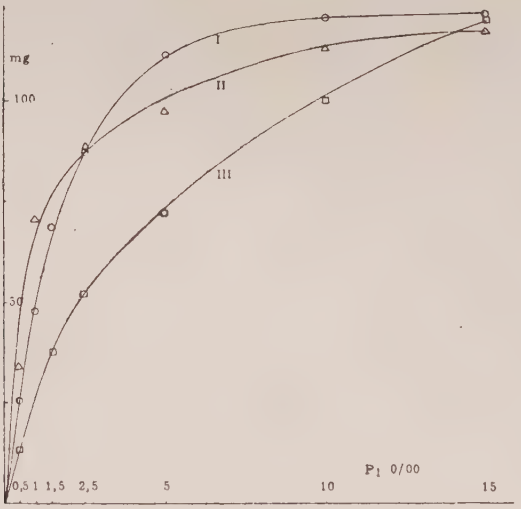



Fig. 11. — Allantoïne détruite, en mg par litre, par l'allantoïnase de *Tipula paludosa* (I), *Schistocerca gregaria* (II), *Carabus intricatus* (III), en fonction de la concentration en matériel enzymatique (en abscisses, la concentration ‰ en poudre $P_1$).

cette proportionnalité ne continue pas, et, à de nouveaux accroissements en matériel enzymatique, ne correspondent bientôt plus que des augmentations de moins en moins importantes de l'allantoïne transformée. La proportion de substrat hydraté ne tarde pas d'ailleurs à atteindre une valeur maximum ; une quantité plus importante de poudre n'amène alors pas de résultats supérieurs ; on observe même parfois le contraire. Dans aucune des expé-

riences de ce genre, nous n'avons obtenu une transformation totale de l'allantoïne mise en expérience.

Cette absence de correspondance entre la concentration en matériel enzymatique et le pourcentage en allantoïne transformée avait déjà été observée lors de la recherche de l'allantoïnase sur les macérations d'Insectes frais... Il en avait été de même d'ailleurs pour l'uricase. Nous ne savons si cela provient de substances inhibitrices apportées avec le matériel enzymatique utilisé, comme nous en avons déjà envisagé l'hypothèse, ou plus simplement de l'action freinatrice de colloïdes de nature protéique présents dans les poudres utilisées.

### E. — Activité de l'allantoïnase en fonction du temps

Nous avons conduit cette série de recherches à la température la plus favorable en faisant agir une poudre enzymatique à la concentration de 0,5 % sur une solution M/1 000 d'allantoïne dans le tampon au pH optimum. L'acide allantoïque formé a été recherché et dosé après des durées variables ; après avoir effectué les corrections éventuelles, nous en avons tiré le tableau ci-joint :

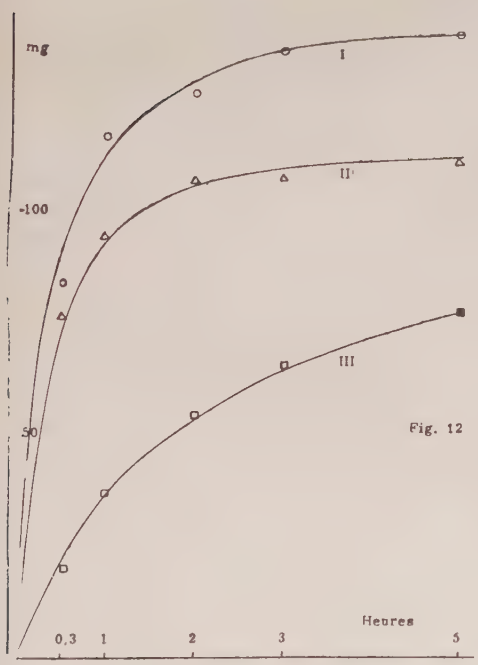



Fig. 12

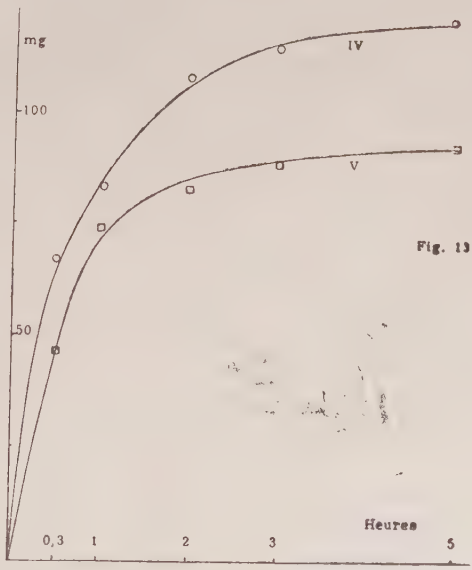



Fig. 13

Fig. 12-13. — Allantoïne détruite, en mg par litre, par l'allantoïnase de *Aglais urticae*, chenilles (I), *Aglais urticae*, imagos (II), *Carabus intricatus* (III), *Tipula paludosa* (IV), *Schistocerca gregaria* (V), en fonction du temps. (*Erratum* : au lieu de 0,3, lire 0,5).

| Matériel enzymatique | | Allantoïne détruite en mg par litre après : 0 h 30 | 1 h | 2 h | 3 h | 5 h |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *Schistocerca gregaria* ♂ | $P_1$ | 45,4 | 67,7 | 82,7 | 89,2 | 92,9 |
| *Tipula paludosa* ..... | $P_1$ | 68,2 | 84,0 | 108,6 | 114,7 | 121,8 |
| *Aglais urticae* chenilles | $P_1$ | 85,1 | 110,6 | 119,2 | 128,7 | 132,2 |
| *Aglais urticae* imagos . | $P_1$ | 76,8 | 94,7 | 107,2 | 107,7 | 110,5 |
| *Carabus intricatus* ♂ . | $P_1$ | 21,4 | 36,4 | 53,8 | 65,2 | 76,3 |

Ce tableau et les courbes correspondantes (fig. 12-13) nous montrent que la réaction ne semble linéaire (d'ordre nul) que pendant un temps très court tout au début de l'expérience. Très tôt, elle paraît devenir de premier ordre. Elle s'arrête après un laps de temps variable, bien qu'il reste encore, dans certains cas du moins, une quantité appréciable d'allantoïne non transformée. Même en prolongeant davantage l'expérience nous n'avons jamais obtenu une transformation totale du substrat.

## F. — Conservation de l'enzyme

Grâce à un matériel de départ suffisamment abondant, il nous est resté de petites quantités de certaines des poudres enzymatiques utilisées pour l'étude de l'allantoïnase. Elles ont été conservées dans le vide, sur chlorure de calcium desséché. Après un an, nous avons placé 5 mg de ces poudres en contact avec 1 ml d'allantoïne M/1 000 en solution dans le tampon à pH 7,3, laissé le tout au bain-marie à 38° pendant cinq heures, puis évalué le pourcentage d'allantoïne détruite. Nous donnons ci-après les chiffres trouvés, en rappelant ce qui avait été obtenu dans les mêmes conditions en présence des mêmes poudres, lorsqu'elles étaient fraîches.

| | | Allantoïne transformée, en mg par litre, en présence de : poudres fraîches | poudres d'un an |
|---|---|---|---|
| *Schistocerca gregaria* ♂ | $P_1$ | 110,6 | 66,3 |
| » » | $P_2$ | 63,2 | 37,9 |
| » » | $P_{11}$ | 93,2 | 80,5 |
| » » | $P_{21}$ | 80,5 | 47,4 |
| *Schistocerca gregaria* ♀ | $P_1$ | 75,8 | 37,7 |
| » » | $P_2$ | 36,3 | 20,5 |
| » » | $P_{11}$ | 64,7 | 34,7 |
| » » | $P_{21}$ | 56,8 | 47,4 |
| *Acheta domestica* ♂ | $P_1$ | 88,4 | 63,5 |
| *Acheta domestica* ♀ | $P_1$ | 113,8 | 90,5 |
| *Tipula paludosa* | $P_1$ | 121,6 | 120,8 |
| *Aglais urticae* chenilles | $P_1$ | 120,0 | 120,0 |

Ces résultats nous montrent que l'allantoïnase des Insectes résiste assez bien à l'action du temps. Toutefois, certaines poudres

enzymatiques manifestent après un an une activité nettement amoindrie (poudres de *Schistocerca,* d'*Acheta*) ; par contre on ne note aucune diminution dans celles de *Tipula* ni d'*Aglais.*

Cette bonne conservation de l'enzyme dans nos préparations nous a amené à la rechercher sur des Insectes desséchés sans aucune précaution spéciale, et destinés non à des recherches physiologiques, mais à des collections en vue d'études morphologiques ou écologiques.

Nous avons ainsi mis l'enzyme en évidence chez les quelques espèces suivantes. Nous indiquons après chaque nom, le nombre de mois écoulés depuis la capture.

COLÉOPTÈRES

*Selatosomus latus* F. (8)

LÉPIDOPTÈRES

Français

Psychoidea : *Zygaena carniolica* Scop. )5)

Papilionoidea : *Papilio sinon* Poda (6) ; *Dryas paphia* (6) ; *Argynnis aglaja* L. (6) ; *Vanessa io* L. (5) ; *Melanargia galathea* L. (5) ; *Satyrus ante* O. (6).

Noctuoidea : *Callimorpha quadripunctaria* Poda (5).

Guinéens

Papilionoidea : *Papilio demodocus* Esp. (10) ; *Amauris hecate* Btlr. (10) ; *Papilio pylades* F. (10) ; *Amauris inferna* Btlr. (10) ; *Papilio cypraeofila* Butl. (10) ; *Amauris psyttalea* Plötz (10) ; *Danaïs alcippus* F. (10) ; *Pieris calypso* Drum. (10) ; *Terias brenda* Dhl et Hiw. (10).

Noctuoidea : *Euchromia formosa* Guer. (10) ; *Coenides orma* Plötz. (10).

Dans quelques cas, voulant comparer avec les chiffres obtenus au moyen d'Insectes frais, nous avons effectué nos macérations d'exemplaires séchés en tenant compte du fait que lors de la dessiccation l'Insecte perd environ les 2/3 de son poids. Nous avons ainsi constaté que l'allantoïnase reste très active chez *Papilio sinon, Dryas paphia, Callimorpha.* Chez d'autres, il se manifeste une nette diminution de l'activité (*Vanessa io*).

La solidité de la molécule de l'allantoïnase des Insectes et sa grande activité chez un certain nombre d'entre eux nous a ainsi permis de la mettre en évidence dans des conditions exceptionnelles.

Nous devons toutefois signaler qu'une telle conservation n'est pas indéfinie, ni absolument générale. Nous n'avons trouvé aucune

trace de l'enzyme chez des exemplaires conservés depuis plusieurs années et qui en possèdent pourtant de grandes quantités à l'état frais. Il nous est même arrivé de n'en plus trouver après seulement quelques mois chez des espèces qui en contiennent normalement. C'est pourquoi, il convient d'interpréter avec réserve les résultats négatifs obtenus dans ces conditions, quand ils ne sont pas confirmés par des expériences sur des échantillons frais. C'est ainsi qu'il faut comprendre la mention « recherché seulement sur Insectes desséchés de collection » qui accompagne certaines espèces dans le tableau récapitulatif.

## DISCUSSION GÉNÉRALE ET CONCLUSION SUR L'ALLANTOINASE

Nos résultats nous ont prouvé que chez de nombreux Insectes l'uricolyse n'en reste pas à son premier chaînon. L'allantoïne, formée grâce à l'action de l'uricase sur l'acide urique, subit à son tour l'action d'une enzyme, l'allantoïnase, et se trouve transformée en acide allantoïque.

Avant nous, Rocco (1936-1938) a signalé l'allantoïnase chez divers Orthoptères et Coléoptères. De ses observations, cet auteur a conclu en affirmant que les espèces intéressées conduisent la dégradation de leur acide urique jusqu'au stade acide allantoïque. Ses conclusions ont peut-être été considérées comme prématurées ou insuffisamment prouvées ; elles n'ont pas été suivies. Plus tard, Florkin et Duchateau (1943) ont recherché l'enzyme chez cinq espèces d'Insectes ; ils ont observé sa présence chez l'une d'elles, mais n'en ont pas tiré de conclusion.

Nous avons apporté la preuve que l'allantoïnase existe à la fois chez des Aptérygotes (Collemboles) et chez de nombreux Ptérygotes. Son activité est particulièrement marquée chez de nombreux Polynéoptères et surtout chez beaucoup d'Holométaboles (Coléoptères, Névroptéroïdes, Mécoptères, Trichoptères, Diptères Nématocères). Nous affirmons que ces Insectes sont caractérisés par la possession d'un système uricolytique permettant de conduire la dégradation de l'acide urique au moins jusqu'au stade acide allantoïque. Nous verrons que chez la plupart des espèces considérées l'uricolyse en reste là, que l'acide allantoïque est effectivement élaboré et éliminé à l'extérieur, et que ces Insectes, considérés jusqu'ici comme uricotéliques, sont en fait « allantoïcotéliques ».

A propos des Coléoptères aquatiques, Rocco faisait remarquer que l'allantoïnase existe chez les espèces carnassières, comme les Dytiques, tandis qu'elle manque chez les Hydrophiles, herbivores,

et l'auteur concluait à l'existence d'une relation entre les conditions de vie, le milieu, et le catabolisme purique. On peut être tenté d'étendre l'hypothèse de Rocco à l'ensemble des Coléoptères. L'allantoïnase est rencontrée en effet chez les espèces dont le régime est au moins partiellement carnivore : Malacodermes, Elatérides, Carabides, Dytiscides ; elle manque, à très peu d'exceptions près, chez les Coléoptères uniquement végétariens : Cérambycides (à l'encontre de Rocco, nous considérons qu'elle n'existe chez aucun d'eux), Chrysomélides, Rhynchophores, Scarabéides... L'allantoïnase manque également chez les détritivores, comme les Ténébrionides.

Quelque séduisante que puisse paraître une semblable répartition de l'allantoïnase chez les Coléoptères, nous devons affirmer qu'elle n'est pas totalement exacte. Il y a en effet de nombreuses exceptions. C'est ainsi que divers Coléoptères carnivores sont dépourvus de l'enzyme, bien qu'ils soient morphologiquement très proches de ceux qui la possèdent. Nous n'avons pu déceler la présence de l'allantoïnase chez *Cicindela maritima*, alors qu'elle existe chez l'espèce voisine *Cicindela hybrida*. Contrairement aux affirmations de Rocco, nous considérons qu'elle manque chez *Carabus auratus*, bien qu'elle soit très active chez les autres Carabes. L'enzyme manque aussi chez la plupart des Staphylinides et des Sylphides, même chez les espèces carnivores ; il en est de même chez les Coccinellides. L'allantoïnase semble par contre exister, en quantités très faibles il est vrai, chez quelques phytophages comme *Dorcus parallelipipedus* et *Melolontha vulgaris*.

Dans les autres Ordres, on ne décèle aucune relation, si imparfaite qu'elle soit, entre les conditions de vie et le catabolisme. L'allantoïnase existe chez des espèces omnivores (Orthoptéroïdes), carnivores (Névroptéroïdes, Mécoptères, Trichoptères), ou uniquement phytophages (Lépidoptères, Diptères Nématocères Tipulides et Bibionides, Hyménoptères Symphytes). Dans chacun de ces ordres, certaines espèces en sont d'ailleurs dépourvues, bien que pouvant avoir le même régime alimentaire, que celles qui la possèdent.

Ces faits nous montrent encore combien il est imprudent de généraliser à partir d'observations effectuées sur quelques espèces seulement. De telles généralisations peuvent conduire, selon les espèces examinées, à des conclusions absolument opposées, et tout aussi inexactes. Et c'est peut-être parce que ses conclusions étaient trop générales, jugées en opposition avec certains faits connus, que Rocco n'a pas été suivi.

La grande activité de l'allantoïnase, sa présence chez des Insectes de taille appréciable, nous ont permis de chercher à la localiser. Nos observations ont abouti aux mêmes résultats que chez l'uricase : l'enzyme se retrouve dans tout le corps de l'Insecte,

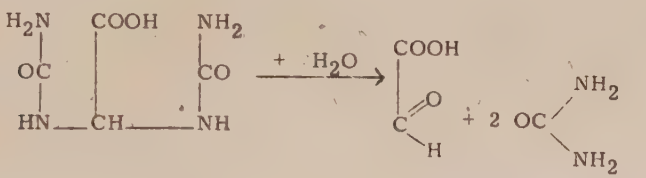
probablement véhiculée par l'hémolymphe, mais est particulièrement abondante dans les tubes de Malpighi. Ces organes secrètent-ils l'allantoïnase ou la concentrent-ils seulement en la retirant du milieu ambiant ? Nous n'avons pu le savoir.

Nous avons retrouvé l'allantoïnase dans les poudres enzymatiques que nous avons élaborées à partir de certains Insectes choisis en raison de leur haute teneur en enzyme, et nous avons pu suivre les variations de son activité en fonction de divers facteurs. Nous avons noté en particulier que l'allantoïnase des Insectes possède en général sa plus grande activité au pH de 7,7, et que la température optimale pour son action est élevée, allant selon les espèces de 38° à 56°, mais se situant dans de nombreux cas à 46°-48°.

L'allantoïnase de certains Insectes peut être conservée pendant un temps relativement long, sans perdre de son activité. Et nous espérons, ainsi que pour l'uricase, pouvoir tirer parti de cette propriété, en accumulant un matériel assez abondant pour élaborer une préparation purifiée de l'enzyme, et poursuivre son étude de façon plus approfondie.

## III. — L'ALLANTOICASE

La scission spontanée de la molécule d'acide allantoïque en acide glyoxylique et urée selon la réaction :




avait été décrite par Fosse (1928) comme « un nouveau mode de formation de l'urée ». Cet auteur admettait, ainsi qu'il écrivait avec de Graeve et Thomas (1933) que la molécule d'acide allantoïque, assez instable dès que le pH devient inférieur à 7, se dédouble spontanément dans les sucs végétaux en acide glyoxylique et urée.

Quelques années plus tard, Krebs (1935), Brunel (1936) ont prouvé que cette hydrolyse de l'acide allantoïque ne s'accomplit pas spontanément chez les êtres vivants, mais est le résultat de l'action d'un biocatalyseur, d'une hydrolase, à laquelle, indépendamment l'un de l'autre, ils ont donné le nom d'*allantoïcase*.

L'allantoïcase, est une enzyme moins répandue, semble-t-il, que l'allantoïnase. Dans le règne animal, on note sa présence chez quelques Vertébrés : Poissons Sélaciens et quelques Téléostéens (Brunel, 1937), Ganoïdes et Dipneustes (Florkin et Duchateau, 1943) ; elle existe également chez les Amphibiens (Krebs, Brunel) ; mais jamais sa présence n'a été signalée chez les Reptiles, les Oiseaux ou les Mammifères. Il faut toutefois noter que les observations de Mourot (1938) laissent supposer la présence et l'action de cette enzyme « in vivo » chez le Lapin. Quant aux Invertébrés, quelques-uns d'entre eux en sont pourvus : les Sipunculiens (Florkin et Duchateau, 1943), les Crustacés Décapodes (Id., 1943), les Mollusques Lamellibranches (Id., Brunel, 1938 ; Brunel et Fischer, 1953-1954). L'allantoïcase a été également mise en évidence chez quelques Insectes : chez *Bombyx mori* L. à certains stades larvaires (Manunta, 1948) et chez le Collembole *Xenylla velchii* Folsom (Razet, 1952).

## RECHERCHE GÉNÉRALE DE L'ALLANTOICASE CHEZ LES INSECTES

### A. — Recherche quatitative

Pour cette recherche, le substrat employé est l'allantoate de potassium, obtenu selon les indications données par Brunel (1936).

On effectue une solution M/500 de cet allantoate dans le tampon phosphate soude de Clark et Lubs de pH 7,1. On prépare dans le même temps une macération d'Insecte selon les mêmes techniques que lors des recherches de l'uricase et de l'allantoïnase.

Dans le cas d'un résultat positif, on pourra à la fin de l'expérience caractériser dans le milieu l'acide glyoxylique par la réaction phényl-hydrazinique de Schryver-Fosse, obtenue immédiatement, sans chauffage. Il peut toutefois arriver que ce composé disparaisse lui-même du milieu au fur et à mesure de sa formation, probablement par suite d'une nouvelle action enzymatique (Brunel-Capelle, 1950). On obvie à cet inconvénient en additionnant le milieu en expérience de chlorhydrate de phényl-hydrazine dès le début de l'expérience. Dans ces conditions, tout se passe comme si la phényl-hydrazine se combinait à l'acide glyoxylique, empêchant sa destruction.

Le protocole expérimental sera donc le suivant :

| Milieux | 0 | T | E |
|---|---|---|---|
| Macération | — | 3 | 3 ml |
| Solution tampon à pH 7,1 | 3 | 3 | — ml |
| Allantoate M/500 dans le tampon | 3 | — | 3 ml |
| Chlorhydrate de phénylhydrazine | 5 | 5 | 5 mg |
| Toluène | 3 | 3 | 3 gttes |
| Température | 38° | 38° | 38° |
| Durée | 1 h | 1 h | 1 h |

A la fin de l'expérience, on prélève une partie aliquote de chaque milieu, on la défèque, et on y recherche l'acide glyoxylique.

Si l'Insecte étudié possède de l'allantoïcase, on observe dans le milieu E la coloration rouge caractéristique.

Il est nécessaire d'effectuer ces manipulations très rapidement, car on se trouve en milieu un peu acide dans lequel l'acide allantoïque utilisé ne tarderait pas à se dissocier spontanément. Nous avons d'ailleurs toujours vérifié sur des solutions sans macération (solution 0) que semblable dissociation ne s'est pas effectuée.

Le milieu T permet de voir si l'Insecte étudié n'apporte pas lui-même soit de l'acide glyoxylique, soit les éléments pouvant lui permettre d'en élaborer.

L'allantoïcase a été recherchée chez de très nombreux Insectes,

mais n'a été que fort rarement rencontrée ; on s'en rendra compte à l'examen du tableau récapitulatif général. De très petites quantités de l'enzyme nous ont semblé se manifester chez diverses espèces très éloignées d'ailleurs les unes des autres sur le plan systématique ; mais dans deux cas seulement, nous avons mis en évidence une allantoïcase vraiment active : chez le Collembole *Xenylla velchii* Folsom et l'Orthoptère *Acheta domestica* L.

Les Insectes pourvus de cette enzyme poursuivent l'uricolyse, et sont capables de scinder en acide glyoxylique et en urée l'acide allantoïque obtenu grâce à l'action successive des enzymes uricase et allantoïnase. Quant aux espèces chez lesquelles nos techniques n'ont mis en évidence que des traces d'allantoïcase, on peut se demander si elles ne possèdent pas « in vivo » une enzyme plus active, et vraiment fonctionnelle.

### B. - **Activité chez Acheta domestica**

Nous avons effecué des broyages de Grillons domestiques de l'un et l'autre sexe avec la solution tampon phosphate soude de Clark et Lubs de pH 7,1 de sorte à avoir une macération à 1/5. Après quelques minutes de contact, nous avons centrifugé, filtré sur coton et recueilli la liqueur de macération.

Nous avons alors mis au bain-marie à 38° les milieux suivants :

| Milieux | 0 | T | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|---|---|
| Macération | – | 4 | 8 | 4 | 2 ml |
| Tampon à pH 7,1 | 8 | 12 | – | 4 | 6 ml |
| Allantoate M/500 dans le tampon | 8 | – | 8 | 8 | 8 ml |
| Chlorhydrate de phénylhydrazine | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 mg |
| Toluène | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 gttes |

Cela nous a permis d'étudier simultanément l'action de macérations à 1/10e, à 1/20e et à 1/40e sur l'allantoate à la dilution de M/1 000. Nous avons, à intervalles réguliers, recherché sur une partie aliquote de chacun de ces milieux l'acide glyoxylique formé, et après dosage à l'électrophotomètre, avons obtenu les résultats contenus dans les tableaux et les courbes ci-joints (fig. 14-15) :

— *avec macération de mâles :*

| | Acide allantoïque retrouvé % sous forme d'acide glyoxylique dans les milieux | | |
|---|---|---|---|
| Durées | 1 | 2 | 3 |
| 1 h | 9,0 | 4,0 | 2,4 |
| 3 h | 32,1 | 14,5 | 8,4 |
| 5 h | 50,4 | 23,4 | 12,3 |
| 7 h | 56,4 | 29,7 | 17,3 |
| 9 h | 55,6 | 28,3 | 18,3 |

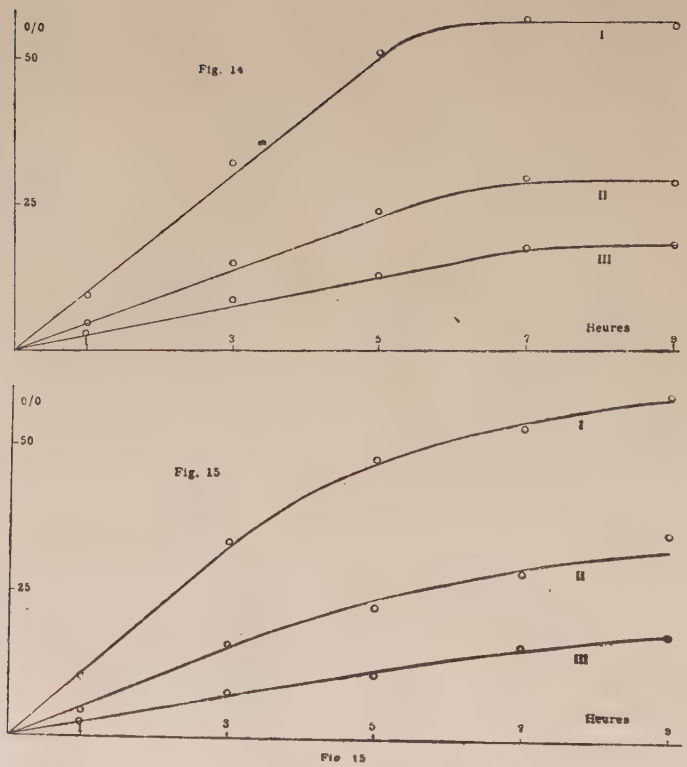



Fig. 14-15. — Acide allantoïque retrouvé % sous forme d'acide glyoxylique, par suite de l'action de l'allantoïcase de macérations d'*Acheta* ♂ (fig. 14) et *Acheta* ♀ (fig. 15) à la concentration de 1/10e (I), 1/20e (II), 1/40e (III), en fonction du temps.

— *avec macération de femelles :*

| Durées | Acide allantoïque retrouvé % sous forme d'acide glyoxylique dans les milieux | | |
|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 |
| 1 h | 10,2 | 4,3 | 2,2 |
| 3 h | 33,5 | 15,4 | 8,0 |
| 5 h | 47,7 | 22,8 | 11,0 |
| 7 h | 53,8 | 28,5 | 16,0 |
| 9 h | 60,3 | 34,7 | 18,3 |

Ces résultats nous montrent que l'activité allantoïcasique des macérations d'*Acheta domestica* est, à peu de choses près, proportionnelle à la concentration, pendant toute la durée de l'expérience. Tout au plus, peut-on remarquer que la macération la plus diluée de chaque sexe a hydrolysé en fin d'expérience proportionnellement un peu plus d'acide allantoïque que les macérations à 1/10e ou 1/20e.

L'examen des courbes correspondantes, qui traduisent l'augmentation de l'acide allantoïque hydrolysé en fonction du temps, nous montrent que la réaction, d'ordre nul, s'arrête après 6 ou 7 heures, en présence de la macération de Grillons mâles ; en présence de la macération de femelles, la réaction est également d'ordre nul, mais seulement pendant les premières heures de l'expérience.

### C. — Activité du complexe allantoïnase-allantoïcase chez Acheta domestica

Comme l'espèce étudiée possède une allantoïnase assez active, nous avons repris les mêmes expériences que ci-dessus en remplaçant la solution d'allantoate par une solution d'allantoïne de même titre. Le protocole expérimental était donc le suivant :

| Milieux | T | 1 | 2 | 3 | |
|---|---|---|---|---|---|
| Macération à 1/5e | 4 | 8 | 4 | 2 | |
| Solution tampon phosphate soude à pH 7,3 | 12 | 8 | 4 | 6 | ml |
| Allantoïne M/500 dans le tampon | — | 8 | 8 | 8 | ml |
| Chlorhydrate de phénylhydrazine | 5 | 5 | 5 | 5 | mg |
| Toluène | 4 | 4 | 4 | 4 | gttes |
| Température | 38° | 38° | 38° | 38° | |

Les tableaux et les courbes (fig. 16-17) qui suivent résument les résultats obtenus :

— *avec macération de mâles :*

| | Allantoïne retrouvée % sous forme d'acide glyoxylique dans les milieux | | |
|---|---|---|---|
| Durées | 1 | 2 | 3 |
| 1 h | 4,1 | 1,2 | 0,4 |
| 3 h | 13,5 | 5,5 | 1,2 |
| 5 h | 31,2 | 11,4 | 2,7 |
| 7 h | 42,5 | 17,7 | 3,9 |
| 9 h | 46,0 | 18,8 | 5,0 |

— *avec macération de femelles :*

| | Allantoïne retrouvée % sous forme d'acide glyoxylique dans les milieux | | |
|---|---|---|---|
| Durées | 1 | 2 | 3 |
| 1 h | 2,4 | 0,14 | 0,1 |
| 3 h | 9,3 | 4,0 | 1,2 |
| 5 h | 14,4 | 9,6 | 2,7 |
| 7 h | 28,0 | 12,7 | 3,9 |
| 9 h | 28,4 | 14,2 | 5,0 |

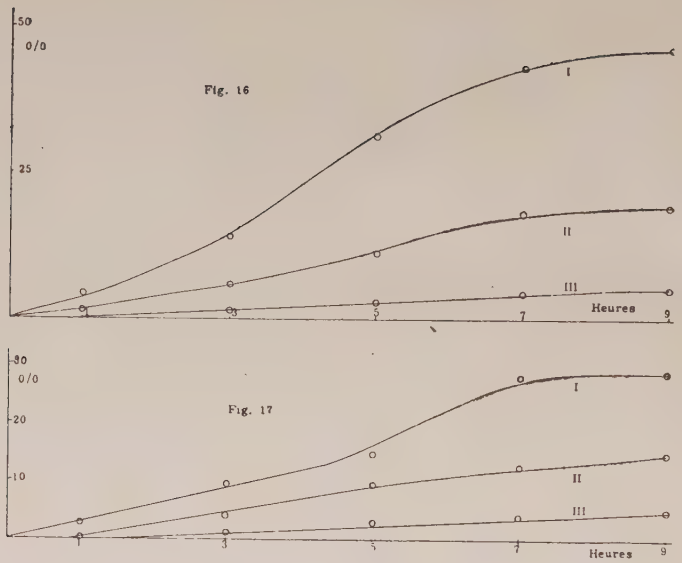



Fig. 16-17. — Allantoïne retrouvée % sous forme d'acide glyoxylique, par suite de l'action des enzymes de macérations d'*Acheta* ♂ (fig. 16) et *Acheta* ♀ (fig. 17) à la concentration de 1/10e (I), 1/20e (II), 1/40e (III), en fonction du temps.

Les chiffres ainsi trouvés sont certes notablement moins élevés que ceux fournis par les expériences précédentes. On sait, pourtant, qu'*Acheta* possède une allantoïnase très active. Il faut donc conclure que l'acide allantoïque ne semble pas scindé en acide glyoxylique et en urée au fur et à mesure de sa formation, l'allantoïcase agissant moins rapidement que l'allantoïnase.

Les chiffres obtenus avec la macération de femelles sont faibles. Cela surprend. En effet, l'allantoïnase et l'allantoïcase prises séparément semblent aussi actives dans ce sexe que dans l'autre. Nous sommes peut-être en présence d'une action freinatrice des colloïdes protéiques présents dans les œufs en formation très nombreux dans l'abdomen des femelles, ces colloïdes étant mis en suspension dans la macération lors de sa confection.

Ces expériences nous prouvent qu'*Acheta domestica* dégrade l'allantoïne en acide glyoxylique et en urée, par la voie de l'acide allantoïque.

## ESSAIS DE LOCALISATION DE L'ALLANTOINASE D'*ACHETA*

Lors de l'étude de l'uricase et surtout de l'allantoïnase, nous avons observé que ces enzymes, présentes certes dans tout le corps

des Insectes qui en sont pourvus, sont particulièrement abondantes dans les tubes de Malpighi. Nous avons recherché s'il est possible de constater une semblable accumulation de l'allantoïcase dans un organe spécial. Reprenant le même protocole opératoire que lors des recherches que nous venons de rappeler, nous avons disséqué avec soin nos sujets, opérant sur trois d'entre eux simultanément. Nous avons placé leurs organes dans un erlenmeyer taré, contenant 2,9 ml de solution tampon phosphate soude à pH 7,3 ; nous avons évalué le poids des organes, puis ajouté 3 ml de solution d'allantoate M/500 dans le même tampon, 0,1 ml de solution aqueuse de chlorhydrate de phényl-hydrazine à 2 %, et 4 gouttes de toluène. Après 6 heures au bain-marie à 38°, nous avons recherché l'acide glyoxylique formé, et rapporté les résultats à 100 mg de tissus.

Nous allons indiquer ces résultats :

Acide allantoïque retrouvé sous forme d'acide glyoxylique (en mg par 100 mg de tissus) :

| | Tube digestif | Tubes de Malpighi | Gonades | Tissu adipeux (Grégarines) | Reste |
|---|---|---|---|---|---|
| *Acheta* ♂ | 0,022 | 0,10 | 0,020 | 0,000 | 0,036 |
| *Acheta* ♀ | 0,011 | 0,10 | 0,012 | 0,000 | 0,027 |

Ces chiffres sont certes peu élevés, surtout si on les compare à ceux qui furent obtenus lors de l'étude de l'allantoïnase. Il faut se souvenir que chez nos sujets, l'allantoïcase se trouve en quantité beaucoup moindre que l'allantoïnase. Néanmoins, en présence des tubes de Malpighi, on assiste à une action enzymatique nettement plus importante. Evidemment, ces organes ont un poids très faible, et on a dû extrapoler pour obtenir les chiffres donnés ici. Mais les expériences précédentes nous ayant prouvé que la quantité d'acide allantoïque transformée est sensiblement proportionnelle à la concentration en tissu, pour une teneur donnée de ces tissus en enzyme, nous pouvons accepter le fait que l'allantoïcase est présente en quantité plus importante dans les tubes de Malpighi.

*Nota.* — La cavité hémocœlienne des Grillons domestiques utilisés contient de nombreux kystes de la grégarine cœlomique *Diplocystis major* Cuénot, qui occupent pratiquement toute la place du tissu adipeux. Ce sont ces kystes que nous avons placés dans le quatrième milieu, celui dans lequel nous mettons ordinairement le tissu adipeux. Ces grégarines ne semblent avoir aucune influence sur l'élaboration de l'allantoïcase d'*Acheta domestica*. Elles semblent contenir par contre de l'allantoïnase, peut-être apportée par l'hémolymphe de leur hôte (cf. allantoïnase, p. 73).

## SUR QUELQUES FACTEURS AFFECTANT L'ACTION DE L'ALLANTOICASE

### A. — Poudres enzymatiques utilisées

Quelques aspects de l'activité de l'allantoïcase d'*Acheta* ont été étudiés sur des poudres $P_1$. Nous avions aussi à notre disposition des poudres $P_2$, poudres dont nous avons pu vérifier l'activité allantoïcasique ; mais pour les raisons de commodité déjà énoncées lors de l'étude de l'uricase et de l'allantoïnase, nous avons effectué toutes nos expériences avec les poudres $P_1$.

### B. — Recherche du pH optimum

Protocole expérimental adopté :

| | |
|---|---|
| Poudre enzymatique $P_1$ | 10 mg |
| Tampon phosphate soude de pH variable | 1,7 ml |
| Allantoate M/100 dans eau distillée | 0,2 ml |
| Chlorhydrate de phényl-hydrazine à 2 % | 0,1 ml |
| Toluène | 2 gttes |
| Température | 38° |
| Durée | 5 h |

A la fin de l'expérience, l'acide glyoxylique a été recherché selon la technique habituelle ; cela nous a donné immédiatement la quantité d'allantoate hydrolysée. Les résultats sont consignés dans les tableaux ci-joints et les courbes des fig. 18-19.

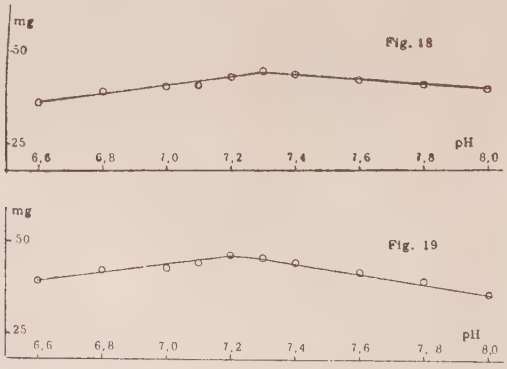



FIG. 18-19. — Acide allantoïque retrouvé sous forme d'acide glyoxylique en mg par litre par suite de l'action de l'allantoïcase de *Acheta* ♂ (fig. 18), et *Acheta* ♀ (fig. 19), en fonction du pH.

— *avec poudre de mâles :*

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| pH au début de l'expérience .... | 6,6 | 6,8 | 7,0 | 7,1 | 7,2 | 7,3 | 7,4 | 7,6 | 7,8 | 8,0 |
| Acide allantoïque retrouvé en mg/l sous forme d'ac. glyoxylique .... | 37,2 | 39,6 | 40,4 | 41,2 | 43,6 | 45,0 | 44,2 | 42,8 | 42,0 | 41,2 |

— *avec poudre de femelles :*

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| pH au début de l'expérience .... | 6,6 | 6,8 | 7,0 | 7,1 | 7,2 | 7,3 | 7,4 | 7,6 | 7,8 | 8,0 |
| Acide allantoïque retrouvé en mg/l sous forme d'ac. glyoxylique .... | 39,2 | 42,8 | 43,4 | 44,2 | 46,4 | 45,6 | 45,0 | 42,0 | 39,8 | 36,2 |

L'allantoïcase d'*Acheta domestica* montre une activité un peu plus marquée avec la solution à pH 7,2 - 7,3. Le même optimum avait été trouvé par Brunel en ce qui concerne le pH de cette enzyme chez le champignon *Sterigmatocystis nigra*. Par contre, l'allantoïcase des Sélaciens montre sa plus grande activité au pH de 7,0 (Brunel).

Pour cette valeur optimum de pH, nous avons, dans de nouvelles séries d'expériences, comparé les chiffres obtenus en présence de solutions tampons de composition différente. Nous allons indiquer ces divers résultats :

| | | Solutions tampons utilisées | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Phosphate soude de Clark et Lubs | Phosphate monopotassique et disodique de Sörensen | Phosphate borax de Kolthoff | Phosphate disodique ac. citrique de Mac. Ilvaine |
| Acide allantoïque retrouvé en mg/l sous forme d'ac. glyoxylique | avec $P_1$ ♂ | 44,8 | 44,0 | 36,2 | 34,8 |
| | avec $P_1$ ♀ | 46,4 | 44,0 | 39,8 | 39,8 |

Des résultats peu différents sont obtenus avec la solution phosphate soude de Clark et Lubs et la solution phosphate monopotassique phosphate disodique de Sörensen. On pouvait s'y attendre, ces tampons ayant à peu près la même composition. Par contre, l'activité de l'allantoïcase est moindre en présence des autres solutions (phosphate borax de Kolthoff, ou phosphate disodique acide citrique de Mac Ilvaine).

### C. — Recherche de la température optimale

Cette recherche a été effectuée dans les conditions ainsi définies :

| | |
|---|---|
| Poudre d'*Acheta* ♂ ..... | 10 mg |
| Tampon phosphate soude à pH 7,3 ..... | 0,9 ml |
| Allantoate M/500 ..... | 1 ml |
| Chlorhydrate de phényl-hydrazine à 2 % .. | 0,1 ml |
| Toluène ..... | 1 gtte |
| Température ..... | variable |
| Durée ..... | 5 h. |

A la fin de l'expérience, la recherche et le dosage de l'acide glyoxylique ont permis d'établir le tableau et la courbe ci-joints (fig. 20).

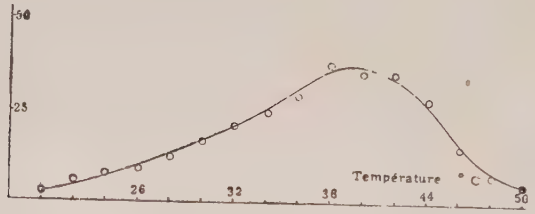



FIG. 20. — Acide allantoïque retrouvé sous forme d'acide glyoxylique, en mg par litre, par suite de l'action de l'allantoïcase d'*Acheta*, en fonction de la température.

Températures

| 20° | 22° | 24° | 26° | 28° | 30° | 32° | 34° | 36° | 38° | 40° | 42° | 44° | 46° | 48° | 50° |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 3 | 3,8 | 7,8 | 5,3 | 13,8 | 17,4 | 21,2 | 25,2 | 30,8 | 35,4 | 36,2 | 35,8 | 28,2 | 15,6 | 7,8 | 6,4 |

Acide allantoïque retrouvé en mg/l sous forme d'acide glyoxylique.

Ces résultats nous montrent que le maximum de transformation est obtenu entre 38° et 42°, avec un optimum à 38°. La courbe correspondante croît progressivement jusqu'à 38°, et décroît rapidement au-dessus de 42°.

### D. — Influence de la concentration en matériel enzymatique

Nous avons repris le protocole utilisé lors de l'expérience précédente, mais en faisant varier la dose de poudre enzymatique. Nous avons comparé les quantités d'acide glyoxylique alors formées après 5 heures au bain-marie à 38°.

Nous allons rassembler en un tableau les chiffres trouvés :

| Quantité de poudre utilisée | | Acide allantoïque retrouvé en mg/litre sous forme d'acide glyoxylique | |
|---|---|---|---|
| en mg dans le milieu | en gr par litre | avec $P_1$ ♂ | avec $P_1$ ♀ |
| 1 | 0,5 | 7,2 | 6,4 |
| 3 | 1,5 | 14,8 | 13,3 |
| 5 | 2,5 | 20,6 | 19,4 |
| 10 | 5 | 39,4 | 42,5 |
| 20 | 10 | 74,8 | 75,6 |
| 30 | 15 | 104,0 | 102,4 |
| 40 | 20 | 135,5 | 132,0 |
| 50 | 25 | 141,0 | 137,0 |

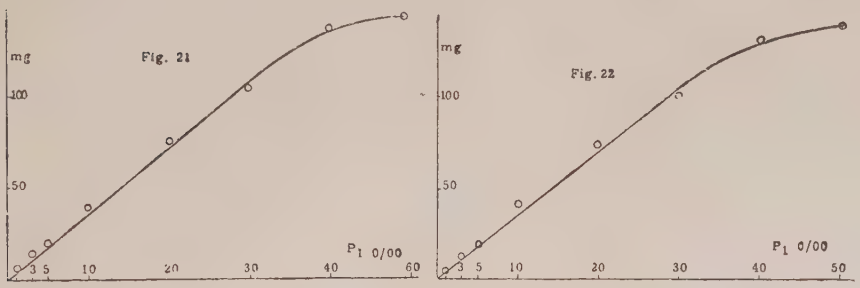



FIG. 21-22. — Acide allantoïque retrouvé sous forme d'acide glyoxylique, en mg par litre, par suite de l'action de l'allantoïcase de *Acheta* ♂ (fig. 21), et *Acheta* ♀ (fig. 22), en fonction de la concentration en matériel enzymatique.

Ces résultats et les courbes correspondantes (fig. 21-22) nous montrent que la quantité d'acide glyoxylique mise en évidence croît régulièrement en même temps que l'augmentation de l'apport en matériel enzymatique tant que cet apport ne dépasse pas une concentration de 15 mg par ml. Jusque là, il y a proportionnalité entre la richesse en matériel enzymatique et la quantité d'acide glyoxylique décelée ; la courbe est donc une droite. Aux concentrations plus élevées, il n'y a plus proportionnalité, et la courbe s'infléchit, du moins dans les conditions expérimentales adoptées. Nous avons vu qu'il en est généralement ainsi, et que dans la plupart des cas, la réaction enzymatique s'arrête, bien qu'il reste encore du substrat non transformé.

On notera que les résultats obtenus ici sont sensiblement de même valeur, qu'ils soient catalysés par la poudre élaborée à partir de Grillons mâles, ou par celle provenant de femelles.

### E. — Activité de l'allantoïcase en fonction du temps

Nous avons suivi la marche de l'hydrolyse de l'acide allantoïque en recherchant l'acide glyoxylique formé après des durées croissantes à la fois en présence et en absence de chlorhydrate de phényl-hydrazine. Nous avons donc opéré comme suit :

| Milieux | 1 | 2 |
|---|---|---|
| *Acheta domestica* $P_1$ ..... | 70 | 70 mg |
| Allantoate M/1 000 dans tampon à pH 7,3 ..... | 7 | 7 ml |
| Chlorhydrate de phényl-hydrazine .. | — | 10 mg |
| Toluène ..... | 4 | 4 gttes |
| Température ..... | 38° | 38° |
| Durée ..... | variable | variable |

Nous allons résumer en un tableau les résultats obtenus :

| Durées | Titre en acide allantoïque | Acide allantoïque retrouvé en mg/litre sous forme d'acide glyoxylique | |
|---|---|---|---|
| | | sans ph-hydrazine | avec ph-hydrazine |
| — *avec* $P_1$ *de mâles :* | | | |
| 1 h | 176 mg | 10,5 | 18,1 |
| 2 h | ... | 24,6 | 41,0 |
| 3 h | ... | 24,6 | 47,0 |
| 5 h | ... | 35,6 | 76,4 |
| 7 h | ... | 36,2 | 98,2 |
| — *avec* $P_1$ *de femelles :* | | | |
| 1 h | 176 mg | 18,5 | 19,6 |
| 2 h | ... | 34,8 | 43,4 |
| 3 h | ... | 35,6 | 55,6 |
| 5 h | ... | 52,8 | 82,8 |
| 7 h | ... | 58,0 | 109,8 |

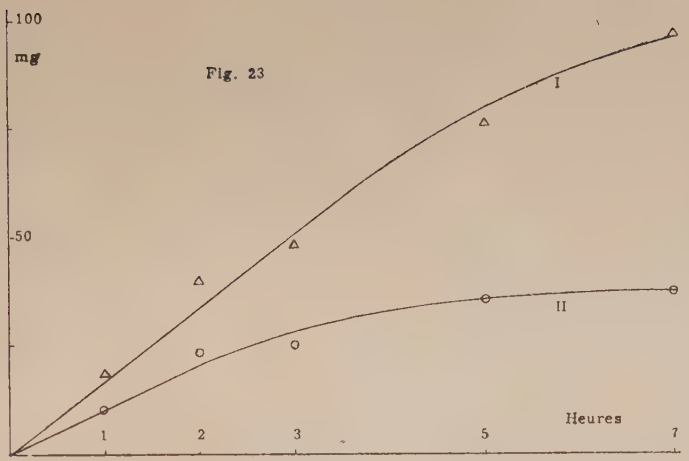
Ces résultats, traduits dans les courbes jointes (fig. 23-24) nous suggèrent les conclusions suivantes :

1. — En présence de phényl-hydrazine, on note un accroissement régulier de la quantité d'acide glyoxylique formée, accroissement qui diminue ou s'arrête après un certain nombre d'heures.

Les courbes correspondantes montrent que les réactions sont d'ordre nul, au moins pendant les trois premières heures ; elles semblent ensuite de premier ordre.

2. — En absence de phényl-hydrazine, une quantité beaucoup moindre d'acide glyoxylique est mise en évidence. Il ne semble pas pourtant que la phényl-hydrazine accélère la réaction. Il faut plutôt admettre en son absence une destruction de l'acide glyoxylique formé, destruction due à une nouvelle action enzymatique (Brunel-Capelle, 1950).

3. — L'activité de l'enzyme semble se poursuivre plus longtemps avec la poudre de femelles, et la quantité d'acide glyoxylique alors obtenue en fin d'expérience est plus importante.



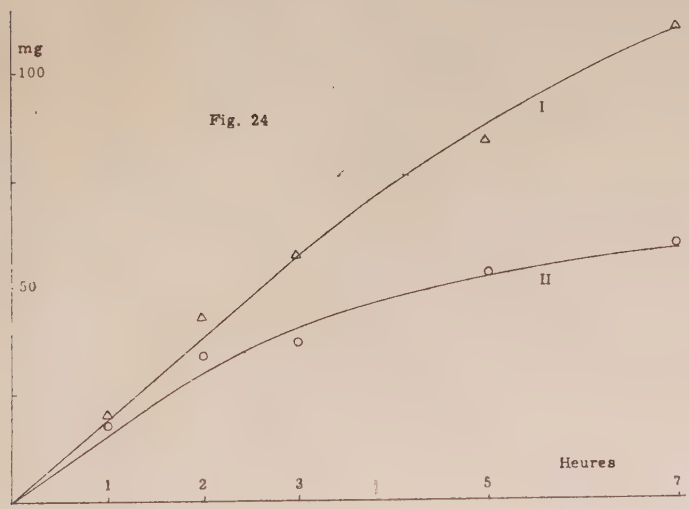




Fig. 23-24. — Acide allantoïque retrouvé sous forme d'acide glyoxylique, en mg par litre, par suite de l'action de l'allantoïcase de *Acheta* ♂ (fig. 23), et *Acheta* ♀ (fig. 24), en fonction du temps, en présence de chlorhydrate de phényl-hydrazine (I), et sans chlorhydrate de phényl-hydrazine (II).

## F. — Conservation de l'allantoïcase

Nous avons conservé les poudres enzymatiques d'*Acheta domestica* dans le vide sur chlorure de calcium desséché, et tous les 6 mois, nous avons mesuré leur activité allantoïcasique. Nous avons suivi pour cela le même protocole que précédemment, utili-

sant chaque fois 10 mg de poudre placés en présence de 1 ml d'allantoate M/500 dans le tampon phosphate soude à pH 7,3, 0,9 ml de tampon et 0,1 ml de solution aqueuse de chlorhydrate de phényl-hydrazine à 2 %. Nous réunirons en un tableau les chiffres obtenus :

| Poudre utilisée | Acide allantoïque retrouvé en mg/litre sous forme d'acide glyoxylique (après 5 h) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | fraîche | après 6 mois | après 12 mois | après 18 mois |
| $P_1$ ♂ | 44,8 | 30,2 | 18,4 | 11,2 |
| $P_1$ ♀ | 46,4 | 33,4 | 22,4 | 18,0 |

L'activité allantoïcasique des poudres enzymatiques de nos sujets diminue de façon notable et progressive si on cherche à les conserver. La molécule de l'allantoïcase semble comparativement plus fragile que celle des enzymes déjà étudiées (uricase, allantoïnase) : elle se conserve en effet beaucoup plus imparfaitement.

## DISCUSSION ET CONCLUSION SUR L'ALLANTOICASE

L'allantoïcase est une enzyme peu répandue en général. Chez les Insectes elle semble rare ; nous l'avons rencontrée chez quelques espèces, mais chez deux d'entre elles seulement nous lui avons trouvé une activité appréciable. Les Insectes qui la possèdent doivent être considérés comme aptes à scinder en acide glyoxylique et en urée la molécule d'acide allantoïque, formée elle-même grâce à l'action successive des enzymes uricase et allantoïnase sur la molécule d'acide urique.

Manunta (1948) signale avoir observé la présence de cette enzyme chez le Ver à soie, pendant quelques-uns des stades larvaires. Si on en croit cet auteur, l'allantoïcase pourrait ainsi se manifester pendant certaines périodes de la vie de l'Insecte et disparaître ensuite. Nous n'avons pu nous-mêmes la mettre en évidence chez la même espèce, mais nous ne l'avons peut-être pas recherchée au moment opportun. On peut se demander si des recherches sériées étalées tout le long du développement de d'autres espèces ne permettraient pas d'observer une activité réelle mais momentanée de l'enzyme, comme chez *Bombyx mori*.

Nous n'avons pu effectuer une étude approfondie de l'allantoïcase que chez l'Orthoptère *Acheta domestica* L.

L'enzyme semble répartie dans tout l'organisme de l'Insecte ; mais nous avons observé, comme pour l'uricase et l'allantoïnase,

une concentration beaucoup plus importante dans les tubes de Malpighi.

Les poudres enzymatiques que nous avons élaborées nous ont permis de connaître quelques aspects de l'activité de l'allantoïcase d'*Acheta* ; nous avons constaté que chez nos sujets l'enzyme étudiée possède le même comportement que chez les autres espèces où elle est connue.

Des recherches ultérieures nous permettront, nous en sommes sûr, de retrouver l'allantoïcase chez d'autres espèces, au moins à certaines périodes de leur développement ; nous pourrons ainsi, grâce à du matériel enzymatique plus varié, mieux connaître l'action de cette enzyme chez les Insectes.

## CONCLUSION GÉNÉRALE SUR L'ÉTUDE DES ENZYMES DE L'URICOLYSE

FLORKIN et DUCHATEAU font remarquer que la connaissance de la présence ou de l'absence des différents constituants du système enzymatique uricolytique nous renseigne sur le type du catabolisme purique chez l'organisme considéré. S'il n'y a pas d'uricase, l'acide urique ne subit aucune dégradation ; par contre en présence de cette enzyme, l'uricolyse produit de l'allantoïne. Le catabolisme est poussé jusqu'à l'acide allantoïque, dans le cas de la présence simultanée d'uricase et d'allantoïnase, et peut atteindre l'acide glyoxylique et l'urée si l'allantoïcase s'ajoute aux deux enzymes déjà citées ; ce catabolisme peut enfin aller jusqu'à l'ammoniaque, si l'uréase vient compléter la chaîne enzymatique de l'uricolyse.

Nous avons démontré, chez de nombreux Insectes, la présence de constituants de ce système enzymatique uricolytique. Certaines espèces possèdent seulement l'uricase, et sont capables de transformer l'acide urique en allantoïne : tels sont en particulier la grande majorité des Hétéroptères et les Diptères Brachycères à larves créophages. D'autres Insectes, possédant uricase et allantoïnase, conduisent plus loin le catabolisme, et sont susceptibles d'élaborer de l'acide allantoïque : c'est le cas de quelques Polynéoptères, et surtout de nombreux Holométaboles. Certains Insectes très peu nombreux, ont aussi de l'allantoïcase, et on peut admettre que le catabolisme peut aller chez eux jusqu'à l'acide glyoxylique et l'urée.

L'acide glyoxylique ainsi formé semble subir, à son tour, l'action d'une nouvelle enzyme, ce qui amène sa disparition ; nous avons noté ce fait à la fois chez le Collembole *Xenylla* et chez l'Orthoptère *Acheta*. Nous n'avons pu élucider le mécanisme de cette nouvelle action enzymatique.

L'uréase termine la chaîne uricolytique classique, transformant en ammoniaque l'urée formée grâce à l'action de l'allantoïcase. Jusqu'ici on ne connaît aucun Insecte pourvu de cette chaîne

uricolytique complète, capable de conduire la dégradation de l'acide urique jusqu'à l'ammoniaque.

Ce n'est pas que l'uréase n'existe chez aucun Insecte. Mais tous ceux qui à notre connaissance la possèdent manquent d'allantoïcase, et par suite, dans tous les cas connus, son substrat, l'urée, ne peut provenir de la dégradation de l'acide urique ; son origine est exclusivement protidique, car l'absence de l'allantoïcase interrompt de façon absolue l'uricolyse au stade acide allantoïque.

L'uréase est une enzyme peu répandue chez les Insectes. Elle a été signalée chez les larves créophages de diverses mouches : *Phormia regina* Mg, *Lucilia sericata* Mg. (1), *Sarcophaga carnaria* L. (Tomita et Kumon, 1936 ; Baker, 1939 ; Robinson et Baker, 1939 ; Robinson et Wilson, 1939).

Nous avons nous-même mis cette enzyme en évidence chez un Hétéroptère (*Syromastes marginatus* L.), un Coléoptère (*Adonia variegata* Goeze), un Hyménoptère Symphyte à ses 3 stades (*Diprion pini* L.), quelques Diptères (larves de *Chironomus*, imagos de *Tipula pagana* Mg et *Chortophylla brassicae* Bouché), des larves de Trichoptères (*Glyphotaelius pellucidus* Retz, *Stenophylax rotundipennis* Brauer), et divers Lépidoptères (chenille de *Zygaena trifolii* Esp., — chenille, chrysalide et imago de *Pieris brassicae* L. — imagos de *Pieris rapae* L., *Epinephele jurtina* L., *Epinephele tithonus* L., *Polyommatus icarus* Rott., *Coenonympha pamphilus* L., *Callimorpha quadripunctaria* Poda, *Agrotis c-nigrum* L., *Tholera popularis* F., *Amathes lychnidis* Schiff., *Amathes helvola* L.). L'uréase ainsi décelée semble très peu active : 100 mg de poudre $P_2$ de larves de *Diprion pini*, placés en présence de 10 ml de solution d'urée à 1 % dans le tampon phosphate soude à pH 7,0, catalysent en 9 heures à 38° l'hydrolyse de 4,7 % du substrat.

La recherche des enzymes de l'uricolyse chez les Insectes présente quelques cas plus complexes, auxquels avait déjà fait allusion Rocco. Il semble en effet que parfois la chaîne de l'uricolyse soit discontinue, la recherche de l'allantoïnase donnant un résultat positif, celle de l'uricase aboutissant par contre de façon négative.

Nous avons déjà envisagé l'hypothèse d'une inhibition possible de l'uricase dans nos expériences, alors qu'elle serait active « in vivo ». D'autres explications peuvent aussi être envisagées ; nous y reviendrons ultérieurement.

*Nota.* — Dans tous les cas étudiés, nous n'avons envisagé le mécanisme de l'action de l'uricase que selon le schéma classique, avec aboutissement à l'allantoïne. Nous n'affirmons pas cependant qu'une destruction de l'acide urique ne s'effectue pas parfois avec production d'un autre catabolite ; nous nous demandons même si ce n'est pas le cas de la Blatte *Periplaneta americana*. Nous préciserons ce point ultérieurement.

(1) Brown (1938) n'a pu mettre en évidence l'uréase sur des poudres acétoniques élaborées à partir de ces mêmes larves. Il est probable que ce résultat négatif soit dû à une dénaturation de l'enzyme par l'acétone.

TROISIÈME PARTIE

# L'ACIDE URIQUE ET SES CATABOLITES

Nous avons vu que de nombreux Insectes possèdent un ou plusieurs éléments de la chaîne enzymatique de dégradation de l'acide urique. Grâce aux enzymes ainsi mises en évidence, nous avons obtenu « in vitro », sous certaines conditions, de l'allantoïne ou de l'acide allantoïque. Il est maintenant nécessaire de nous enquérir du résultat de l'action de ces mêmes biocatalyseurs « in vivo ». Nous avons d'ailleurs déjà noté, chez nos sujets, la présence soit de l'allantoïne, soit de l'acide allantoïque, lors des recherches signalées dans la seconde partie de notre travail. Nous nous proposons de nous étendre davantage sur ce point, recherchant et dosant à la fois dans le corps des Insectes et dans les excreta qu'ils émettent, l'acide urique lui-même et les uréides susceptibles d'en provenir. Nous pourrons ainsi connaître l'importance de l'uricolyse, chez les espèces qui en sont pourvues.

Avant d'exposer nos recherches personnelles, nous nous proposons d'effectuer un rappel et une critique, aussi brèves que possible, des travaux publiés jusqu'ici sur ce sujet. Nous indiquerons ensuite comment la concordance observée dans les résultats fournis par les différentes méthodes employées dans ce travail, méthodes physicochimiques et méthodes chromatographiques, nous permet d'affirmer nos conclusions avec une entière certitude.

# I. — DES RÉSULTATS ET DE LEUR VALEUR EN FONCTION DES MÉTHODES

## RAPPEL ET CRITIQUE DES TRAVAUX ANTÉRIEURS

### A. — Acide urique

L'**acide urique** a été maintes fois mis en évidence chez les Insectes. En effet, depuis que CHAUSSIER (1783) a signalé ce composé pour la première fois, chez le Ver à soie, plus de deux cents mémoires ou notes d'importance variable ont été publiés, relatant sa présence chez des Insectes de tous les Ordres. L'acide urique, ou ses sels (1) (urates de sodium, de calcium, de potassium, d'ammonium) sont ainsi signalés chez l'Insecte lui-même (dans son tissu adipeux, son tube digestif, son hypoderme, ses tubes de Malpighi), et dans ses excreta. De temps à autre ont été effectuées diverses mises au point bibliographiques. On pourra ainsi se rendre compte de l'abondance des observations effectuées en prenant connaissance des compilations de KRUKENBERG (1880), MARCHAL (1890, 1910), Von FURTH (1903), EHRENBERG (1925), UVAROV (1928), HEIDERMANS (1937), MALŒUF (1938), TIMON-DAVID (1945), SCHINDLER (1950), ainsi que des chapitres réservés à l'excrétion dans les divers traités concernant les Insectes (HENNEGUY, 1905 ; BERLESE, 1925 ; GRASSÉ, 1949, 1951), et surtout dans les ouvrages ayant plus spécialement trait à la physiologie de l'Insecte (WIGGLESWORTH, 1952 ; RŒDER, 1953 ; CHAUVIN, 1956).

Une telle abondance d'observations n'a pas manqué de retenir l'attention des physiologistes et des biochimistes. Les grandes quantités d'acide urique mises en évidence chez des Insectes de tous les ordres ne pouvaient être expliquées qu'en considérant l'acide urique comme le terme ultime de tout le métabolisme azoté. C'est l'opinion qu'exprimait Von FURTH dès 1903 en ces termes : « Il faut considérer l'acide urique comme le catabolite caractéristique de l'orga-

(1) Dans la suite de ce travail, nous emploierons de façon générale le terme « acide urique », comprenant sous ce vocable, sans discrimination, à la fois le composé lui-même, et ses sels.

nisme des Insectes », opinion reprise par Florkin et Duchateau qui écrivaient en 1943 : « Chez les Insectes adultes, l'acide urique représente le terme prédominant du catabolisme protidique. » C'est là un principe actuellement admis de façon absolue, et exprimé sous une forme ou une autre dans tous les ouvrages traitant des Insectes (Snodgrass, 1935 ; Weber, 1938 ; Ross, 1956 ; Imms, 1957) ou abordant les problèmes physiologiques (Lwoff, 1943 ; Florkin, 1947 ; Needham, 1950 ; Prosser et Coll., 1952). Needham considère d'ailleurs que cette uricotélie des Insectes est une adaptation à la vie terrestre, adaptation qui permet aux organismes intéressés une économie importante de l'eau, l'acide urique étant éliminé à l'état solide après précipitation.

La caractérisation de l'acide urique chez les Insectes a été conduite avec des méthodes variées. Les auteurs les plus anciens avaient recours à la réaction de la murexide. Le matériel susceptible de contenir l'acide urique est chauffé en présence d'acide nitrique pur jusqu'à dessication. De cette façon, l'acide urique est oxydé en alloxane, puis en alloxantine ou acide purpurique ; ce dernier composé, en présence d'ammoniaque, donne la coloration rouge caractéristique du purpurate d'ammonium.

L'oxydation de l'acide urique peut également être conduite en présence d'eau de chlore. La réaction est alors dite « de Weidel » (Jaenicke, 1955). Le résidu blanc ou faiblement jaunâtre obtenu se colore en rose ou en rouge en atmosphère ammoniacale.

Schindler et Lison (1953) font remarquer que la réaction de la murexide n'est pas d'une sûreté absolue. En présence de protides, la coloration jaune de la réaction xanthoprotéique arrive à dissimuler la couleur de la murexide. Une murexide peut fort bien être négative, même en présence d'acide urique. La réaction de Weidel serait plus sûre. Mais il faut noter que diverses autres bases puriques et même des ptérines donnent des résultats positifs avec ces deux réactions, ce qui nuit à leur spécificité.

Si la murexide et la réaction de Weidel permettent une certaine caractérisation « in situ » de l'acide urique, on ne saurait en tirer une évaluation quantitative. Les diverses méthodes de dosage de l'acide urique dans les milieux biologiques utilisent le pouvoir réducteur de ce composé sur les réactifs de Folin (1913) ou de Benedict (1922). En solution fortement alcaline, l'acide urique réduit la solution arséno-phospho-tungstique de Benedict ou le réactif phospho-tungstique de Folin en donnant une coloration bleue dont l'intensité est fonction de la concentration en acide urique.

Ce principe du dosage colorimétrique de la trioxypurine a été adapté par les biochimistes en des protocoles assez nombreux et quelque peu différents les uns des autres ; nous avons utilisé l'un d'eux. Jaenicke rappelle toutes ces méthodes et en fait la critique. En réalité, elles manquent toutes de spécificité. En effet, des com-

posés autres que l'acide urique (acide ascorbique, glutathion, glucose...) peuvent réduire les réactifs de Benedict et de Folin et produire la coloration bleue caractéristique.

Nous savons que pour obvier à cet inconvénient, et donner à la recherche de l'acide urique toutes garanties de sûreté et de spécificité on a recours à l'action, sur l'acide urique, de poudres uricasiques très purifiées obtenues à partir de foie ou de rein de certains Mammifères. La méthode semble alors sans reproche.

La destruction enzymatique de l'acide urique en solution est aussi utilisée dans la méthode dite de spectrophotométrie différentielle mise au point par Kalckar (1947), Praetorius (1948), et adoptée par de très nombreux chercheurs. Nous rappellerons qu'elle est basée sur le pouvoir absorbant de l'acide urique en solution dans l'ultraviolet vers 290 millimicrons. Cette absorption est mesurée sur deux fractions de la liqueur à analyser, l'une d'elles ayant subi l'action de l'uricase. La différence permet de connaître la concentration en acide urique de la solution étudiée, après étalonnement du spectrophotomètre utilisé.

Tandis que la murexide et la réaction de Weidel ne peuvent permettre que la mise en évidence d'acide urique concrétisé ou précipité, les méthodes colorimétriques ou spectrophotométriques par contre supposent la trioxypurine en solution, soit naturellement, dans les liquides biologiques, soit après solubilisation. Cette solubilisation nécessite la transformation de l'acide urique en di-urate alcalin, soluble, mais stable seulement s'il se trouve en présence d'un excès d'alcali (Jaenicke) ; si on cherche à retirer cet excès, le di-urate se décompose et l'acide urique précipite. On peut utiliser dans ce but la soude, la lithine, la potasse ; l'ammoniaque est moins indiquée, car le di-urate d'ammonium est beaucoup moins soluble. Nous avons vu que d'excellents résultats sont obtenus par utilisation d'une solution saturée de carbonate de lithium ; l'acide urique est alors transformé en l'urate le plus soluble : l'urate de lithium.

Diverses autres techniques ont été encore employées pour la détection de l'acide urique. Nous en retiendrons surtout deux : la microscristallisation des urates entre lame et lamelle sur la platine du microscope et leur identification d'après la morphologie des micro-cristaux obtenus (Schindler, 1950) ; l'autre est la chromatographie sur papier. Nous en avons déjà exposé les principes ; les résultats qu'elle permet d'obtenir seront discutés plus loin.

Les travaux signalant l'acide urique chez les Insectes ont été effectués en presque totalité soit au moyen de la murexide, soit par évaluation de la coloration bleue obtenue par réduction des réactifs de Folin et de Bénédict. Les méthodes vraiment spécifiques, basées sur le phénomène de la destruction enzymatique de la trioxypurine, sont récentes, et n'ont été utilisées que depuis une quinzaine d'années.

### B. — Uréides glyoxyliques

En face de cette abondance de renseignements concernant l'acide urique, la littérature paraît très pauvre à propos des uréides glyoxyliques chez les Insectes.

Ce fait provient peut-être de ce que ces corps n'y ont été que rarement recherchés. Nous avons vu que les auteurs considéraient l'acide urique comme le catabolite terminal de tout le métabolisme azoté, et partageaient l'opinion de Przylecki d'après laquelle les animaux capables de synthétiser l'acide urique à partir du catabolisme protidique doivent être regardés comme dépourvus des enzymes nécessaires à la dégradation de cet acide urique.

Cependant, les uréides glyoxyliques ont été rencontrés chez les Insectes.

L'**allantoïne** est produite chez le Lépidoptère *Antherea pernyi* Guér. à certains stades (Leifert, 1935). Elle est excrétée par divers asticots (Robinson, 1935) et par la mouche *Lucilia sericata* Mg. aux stades larvaire et imaginal (Brown, 1938). Elle rentrerait dans la composition du pigment des ailes des Lépidoptères du groupe des Piérides (Schopf, Kottler et Reichert, 1939 ; Timon-David, 1947) ; on a aussi signalé ce corps chez le Hanneton japonais *Popillia japonica* Newm. (Ludwig et Cullen, 1956), ainsi que chez divers Hétéroptères (Poisson et Razet, 1954).

L'**acide allantoïque** a été mis en évidence chez divers Coléoptères et Orthoptères (Rocco, 1936-1938). Il existe dans la chenille de *Bombyx mori* L. (Manunta, 1946-1948). Sa présence a été décelée dans les tissus et les excreta d'un certain nombre de Lépidoptères et chez quelques Hyménoptères (Razet, 1954, 1956).

Sauf Leifert, qui avait employé la méthode de Wiechowski (1913), tous les auteurs ont mis ces uréides en évidence grâce aux méthodes de Fosse et Brunel, l'acide allantoïque étant recherché immédiatement, et l'allantoïne après avoir subi l'action de l'allantoïnase de Soja.

Nous reviendrons ultérieurement sur les résultats qui peuvent être obtenus quant à la mise en évidence de ces corps par utilisation de la chromatographie sur papier.

### C. — Urée et ammoniaque

L'urée et l'ammoniaque peuvent dériver de l'acide urique lorsque la chaîne de l'uricolyse est continue jusqu'à l'allantoïcase et l'uréase. Chez les Insectes, l'ammoniaque ne se forme pas par cette voie, car jusqu'ici allantoïcase et uréase n'ont pas été mises

en évidence simultanément. L'urée elle-même ne peut provenir de l'acide urique que chez les très rares espèces pourvues d'allantoïcase. Dans la plupart des cas, ces catabolites doivent être considérés comme provenant seulement de la dégradation des protides.

Ces deux composés ne rentrent donc pas directement, sauf exception, dans le cadre des recherches faisant l'objet de ce travail, recherches limitées aux catabolites provenant de l'acide urique. Toutefois, comme leur mise en évidence éventuelle chez des Insectes peut être suivie d'interprétations inexactes sur leur origine ou leur rôle dans le métabolisme, nous avons jugé opportun de nous enquérir et de discuter de leur présence dans un certain nombre de cas.

Urée et ammoniaque sont connues chez les Insectes depuis fort longtemps. On les trouve signalées dans les travaux de Davy (1854) qui affirme les avoir rencontrées chez quelques chenilles ou dans leur méconium. Depuis elles sont mentionnées chez diverses espèces, ou dans leurs excreta ; mais leur distribution chez les Insectes est infiniment moins importante que celle de l'acide urique.

L'**urée** a été mise en évidence dans l'hémolymphe de diverses espèces : chenilles de *Bombyx mori* L. (Fosse, 1913, Donato, 1938), de *Prodenia eridiana* Cram. (Babers, 1938) ; abeille (Bishop, Briggs et Ronzoni, 1925) ; larve du diptère *Gastrophilus* (Levenbook, 1950) ; Coléoptères des genres *Hydrophilus* (larve et imago), (Delaunay, 1931, Drilhon et Busnel, 1946, Florkin, 1940), *Popillia* (Ludwig et Cullen, 1956). Leifert (1935) l'a décelée dans les divers tissus de la larve et de la nymphe du Lépidoptère *Antherea pernyi* Guer.. On en trouve de petites quantités chez la Mouche *Lucilia sericata* Mg. (à tous les stades) (Brown, 1938). L'urée existe encore dans le tube digestif des chenilles de *Tineola* (Powning, 1953). Veneziani (1905) affirme son existence dans les tubes de Malpighi de diverses espèces d'Insectes, et Rywosch (1893) l'a isolée de tubes de Malpighi de Teignes.

Wigglesworth (1952) considère que l'urée est présente de façon générale dans les excreta des Insectes, mais en très petite quantité. Elle est signalée dans les excreta des Acridiens *Melanoplus* (Brown, 1937), *Schistocerca* (Chauvin, 1941), du Phasme *Carausius morosus* Br. (Ramsay, 1958), du Coléoptère *Attagenus piceus* Oliv. (Powning, 1953), de Diptères des genres *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* (Irreverre et Terzian, 1959), de la chenille de la Pyralide *Ephestia kuhniella* Zell. (Payne, 1936), de diverses chenilles de Tinéides : *Tinea pellionella* L., *Tineola biselliella* Humm., *Gnorimoschema operculella* Zell. (Babcock, 1912 ; Mosher, 1941 ; Hollande et Cordebard, 1925 ; Powning). On la trouve dans le méconium d'*Attacus pernyi* Guer., de *Saturnia pyri* Schiff., de *Sphinx ligustri* L. (Courtois, 1929) ; dans l'urine de *Rhodnius* (Wigglesworth, 1932). Sa présence dans les excreta est peut-être moins générale que ne l'affirme Wigglesworth ; elle n'est pas en

particulier excretée par les Diptères et Névroptères étudiés par Mahmoud, Hafez, Haggag et Elmoursy (1959).

Les auteurs anciens n'ont pas indiqué leurs méthodes de caractérisation de l'urée. Actuellement, quand elle est assez abondante, on la précipite par combinaison avec le xanthydrol, selon la méthode de Fosse (1928). On peut aussi transformer l'urée en ammoniaque au moyen d'uréase de Soja, et doser l'ammoniaque formée. Ces deux méthodes sont totalement spécifiques.

L'**ammoniaque** a été aussi rencontrée chez divers Insectes. Elle est signalée chez l'abeille (Bishop, Briggs et Ronzoni), chez la chenille et la chrysalide d'*Antherea pernyi* (Leifert), dans la larve de la mouche *Lucilia sericata* (Brown), chez *Bombyx mori* du stade intraovulaire jusqu'à l'imago (Bottero, 1940). On la trouve dans le tube digestif des chenilles de *Tineola*, d'*Agrotis*, de l'Orthoptère *Locusta*, et de diverses larves de Coléoptères scarabéides (Powning). Elle existe aussi dans l'hémolymphe des Coléoptères *Hydrophilus* et *Dytiscus*, mais seulement après exposition à l'air, comme si elle était alors libérée à la suite de l'action d'une désaminase (Florkin, 1940).

On retrouve l'ammoniaque dans les excreta de nombreuses espèces. Souvent elle est combinée à l'acide urique sous forme d'urate d'ammonium. Sa présence est signalée de façon spéciale, en même temps que l'urée, dans certains travaux cités ci-dessus se rapportant aux excreta de *Melanoplus* (Brown), *Schistocerca* (Chauvin), de la chenille de la Pyralide *Ephestia* (Payne), des chenilles de Tinéides *Tinea, Tineola, Gnorimoschema* (Babcock, Mosher, Hollande et Cordebard, Powning), du Coléoptère *Attagenus piceus* (Powning), des Diptères des genres *Aedes, Anopheles, Culex* (Irreverre et Terzian), dans les méconium de *Attacus, Saturnia, Sphinx* (Courtois). On trouve encore de l'ammoniaque dans les excreta de la Pyralide *Galleria mellonella* L. (Zielenska, 1952), dans le méconium de *Deilephila euphorbiae* L. (Heller et Aremowna, 1932).

L'élaboration et l'excrétion d'ammoniaque est particulièrement signalée chez les larves créophages des quelques Diptères Brachycères : *Calliphora vomitoria* L., *Calliphora erythrocephala* Mg., *Wohlfartia vigil* Wlk., *Lucilia sericata* Mg., *Lucilia cuprina* Wied., *Phormia regina* Mg (Wienland, 1909 ; Brown, 1936, 1938 ; Brown et Farber, 1936 ; Hitchcock et Haub, 1941 ; Hobson, 1931-1932 ; Lennox, 1940 ; Michelbacher, Hoskins et Herms, 1932 ; Robinson et Baker, 1939 ; Sedee, 1958). Son élimination est également très importante chez certaines larves aquatiques : larve de l'odonate *Aeschna cyanea* Müll., et du Mégaloptère *Sialis lutaria* L. (Staddon, 1955, 1959).

La caractérisation de l'ammoniaque et son dosage sont basés toujours sur son caractère volatil et sur l'alcalinité de ses solutions.

## RECHERCHES EFFECTUÉES DANS LE PRÉSENT TRAVAIL

Nous avons repris la recherche de tous ces corps, acide urique, allantoïne, acide allantoïque, et éventuellement urée et ammoniaque, effectuant les opérations susceptibles de les mettre en évidence sur les Insectes eux-mêmes et sur leurs excreta. Pour cela, ont été employées les diverses méthodes déjà décrites, méthodes physico-chimiques et méthodes chromatographiques.

### A. — Méthodes physico-chimiques

Les recherches seront limitées en général, à la caractérisation et au dosage de l'acide urique et des uréides glyoxyliques. Dans quelques cas, elles seront étendues à l'ammoniaque.

#### 1) Acide urique

L'acide urique est recherché et dosé par colorimétrie selon la méthode de Buchanan, Christman et Block (1945), avec vérification à l'uricase. Vers la fin de notre travail, nous avons pu substituer à cette méthode celle de la spectrophotométrie ultraviolette. Dans les deux cas, l'utilisation d'un témoin, dans lequel l'acide urique est détruit par l'uricase, donne toutes garanties aux résultats obtenus.

#### 2) Uréides glyoxyliques

L'acide allantoïque est caractérisé grâce à la réaction de Schryver-Fosse obtenue après passage au bain-marie bouillant, puis dosé à l'électrophotomètre. On se souvient que théoriquement semblable résultat peut être obtenu en présence d'acide acétique libre ; nous éliminons les cas de la présence des acides uroxanique et mésoxalique qui n'existent pas chez les êtres vivants. La présence d'acide acétique libre est elle-même très invraisemblable et pratiquement impossible. En effet, nos solutions sont effectuées en milieu alcalin (au moyen d'une solution saturée de $CO_3Li_2$), puis diluées avec un tampon neutre (pH 7,0). Nous ne pensons pas que la légère acidité apportée avant le passage au bain-marie bouillant soit suffisante pour libérer éventuellement l'acide acétique de ses sels.

L'allantoïne est dosée à l'état d'acide allantoïque après avoir subi l'action de l'allantoïnase de Soja en présence de cyanure de potassium. La spécificité absolue de l'allantoïnase pour l'allantoïne permet de considérer les résultats comme sûrs.

### 3) Ammoniaque

La recherche qualitative de l'ammoniaque a été effectuée grâce au bleuissement d'un papier tournesol humide placé au-dessus du tube à essai chauffé contenant le matériel à étudier et une solution alcaline.

Le dosage de ce corps, qu'il préexiste dans notre matériel ou qu'il s'y soit formé par l'action de l'uréase sur l'urée, a été effectué grâce à la méthode de Yovanovitch, telle qu'elle est exposée par Brunel (1949).

Les deux méthodes sont entièrement spécifiques.

## B. — La chromatographie sur papier

Ainsi que nous l'avons déjà indiqué, nous avons eu recours à la chromatographie sur papier pour avoir une preuve supplémentaire de la présence de l'acide urique et des uréides glyoxyliques dans le matériel étudié, preuve venant confirmer les résultats déjà obtenus par les méthodes physico-chimiques. Cette méthode nous a permis en outre de mettre en évidence l'urée.

Nous allons envisager les résultats susceptibles d'être fournis par la chromatographie sur papier à propos de la recherche de ces divers composés.

### 1) Acide urique

Les chromatogrammes sont préparés, développés avec le phénol tamponné, puis débarrassés des restes de solvant par lavage au moyen de tétrachlorure de carbone, ainsi que nous l'avons déjà indiqué.

A la révélation après trempage dans la solution de nitrate d'argent ammoniacal, apparaissent les taches correspondant aux divers urates. En chromatographie ascendante leur Rf est de 0,25 pour l'urate de sodium, 0,26 pour l'urate de lithium, et atteint de 0,30 à 0,33 pour l'urate d'ammonium. En chromatographie descendante, les valeurs des Rf sont légèrement plus élevées (de 0,02 à 0,03).

Nous pourrons ainsi retrouver l'acide urique mis en évidence par les autres méthodes. Nous constaterons en particulier sa présence dans les macérations fraîches de nombreux Insectes. Le Rf pourra y présenter un intérêt tout spécial, car il semble qu'alors la trioxypurine soit restée sous la même forme que chez le sujet vivant.

### 2) Uréides glyoxyliques

Le chromatogramme est préparé, développé avec le phénol tamponné comme lors de la recherche de l'acide urique, puis séché,

débarrassé des restes de solvant, et enfin révélé par pulvérisation de réactif d'Erlich, les résultats obtenus avec le réactif phénol-hypochlorite ne nous ayant pas donné satisfaction. Après des durées variables, parfois assez longues, apparaissent les taches jaunes. Ce n'est qu'après avoir constaté que ces taches possèdent le même Rf que celles provenant des témoins, que nous pourrons conclure à la présence des substances recherchées dans le matériel étudié.

L'allantoïne se manifeste pour une valeur de Rf située aux environs de 0,50. Elle donne des taches peu contrastées, d'un jaune peu net, qui disparaissent à la lumière après quelques jours, et parfois ne se manifestent que sous un courant d'air chaud.

L'acide allantoïque donne des taches très nettes, d'un jaune citron, dont le Rf est de 0,23 - 0,24. La grande sensibilité de cet uréide avec le réactif d'Erlich permet d'avoir un résultat positif avec des quantités très faibles, de l'ordre de 2 gammas.

### 3) L'urée

L'urée apparaît sur les mêmes chromatogrammes que les uréides glyoxyliques. Son Rf en chromatographie ascendante est de 0,70 à 0,72. Il peut atteindre 0,74 en chromatographie descendante. La réaction est très sensible et obtenue avec de petits apports de substance, de l'ordre du gamma.

Craignant toutefois que dans certains cas cette urée ne se soit formée aux dépens de l'acide allantoïque pendant le développement du chromatogramme, par suite de la légère acidité du solvant (pH du phénol tamponné : 6,0), nous avons effectué d'autres chromatogrammes, développés avec le butanol ammoniacal, dont la composition a été précédemment donnée. Après séchage et révélation, les taches correspondant à l'urée ont alors un Rf de 0,25.

## DISCUSSION ET CONCLUSION

Depuis très longtemps, les auteurs ont recherché l'acide urique chez les Insectes, et ont affirmé l'y avoir trouvé en grande abondance. Les méthodes utilisées n'étaient pas toujours d'une spécificité absolue ; il semble bien néanmoins que très généralement on doive faire confiance à ces auteurs et accepter leurs conclusions.

Les uréides glyoxyliques, allantoïne et acide allantoïque, ne sont signalés que chez fort peu d'espèces. L'urée et l'ammoniaque ont été aussi mises en évidence, mais beaucoup moins souvent et beaucoup moins abondamment que l'acide urique.

La recherche de tous ces corps va être reprise dans le travail présent. L'acide urique y sera mis en évidence par deux méthodes également sûres et totalement indépendantes l'une de l'autre. En effet les méthodes colorimétriques ou spectrophotométriques avec vérification à l'uricase, tout comme la chromatographie sur papier avec taches de références, sont absolument spécifiques.

Les uréides glyoxyliques seront caractérisés grâce à la réaction de Schryver-Fosse. Il est certes très improbable et pratiquement impossible qu'un autre composé, l'acide acétique libre, puisse se trouver dans nos solutions et interférer avec l'acide allantoïque. La chromatographie sur papier permettra de lever tout doute, s'il en restait un.

Employée seule, la chromatographie sur papier, telle que nous l'avons employée, ne peut donner une certitude absolue en ce qui concerne les uréides et l'urée. L'alcalinité de certaines des solutions utilisées (dû à l'emploi de carbonate de lithium ou de tampons alcalins) peut amener une transformation partielle de l'acide urique en allantoïne, puis en acide allantoïque, lors du séchage des microgouttes après leur dépôt sur le papier filtre. Et nous nous sommes déjà demandé si ce dernier uréide ne se décompose pas partiellement lui-même en acide glyoxylique et en urée par suite de la légère acidité du phénol.

C'est pourquoi, en ce qui concerne l'allantoïne et l'acide allantoïque nous n'accepterons les résultats chromatographiques qu'autant qu'ils concordent avec les autres. Il nous arrivera en particulier d'éliminer certains chromatogrammes sur lesquels semblera apparaître l'acide allantoïque, alors que le matériel utilisé ne contient que de l'allantoïne.

Il sera fait mention de l'urée et de l'ammoniaque à propos de quelques espèces, dans le but d'éviter toute confusion sur la provenance éventuelle de ces catabolites et de bien préciser leur signification dans le métabolisme.

L'urée sera considérée comme présente de façon certaine dans les cas où elle se manifestera sur les chromatogrammes développés au phénol et préparés avec du matériel dépourvu d'acide allantoïque. Si l'urée et l'acide allantoïque semblent exister simultanément, nous serons plus prudent dans nos conclusions ; de nouveaux chromatogrammes, développés avec le butanol ammoniacal, permettront éventuellement de lever le doute.

Nous ne chercherons pas à tirer de nos chromatogrammes une évaluation quantitative des substances ainsi mises en évidence. Certes, connaissant dans chaque cas le nombre de microgouttes déposées et par comparaison avec les taches de référence, il serait possible d'évaluer jusqu'à un certain point la teneur du matériel étudié. Mais on ne pourrait obtenir ainsi qu'un ordre de grandeur, du moins dans les conditions adoptées pour nos recherches.

Nous avons jugé qu'il suffisait de rester, du moins en ce qui concerne ces techniques chromatographiques, sur le plan qualitatif, les nouveaux résultats ainsi susceptibles d'être apportés devant être considérés comme confirmant les autres, et nous permettant de savoir de façon indubitable si réellement les Insectes élaborent et éliminent dans leurs excreta, outre l'acide urique, d'autres catabolites formés aux dépens d'une partie de cet acide urique par suite de sa destruction grâce à l'uricolyse.

## II. — ACIDE URIQUE ET URÉIDES GLYOXYLIQUES DANS LES TISSUS DES INSECTES

Lors de la recherche des enzymes uricolytiques effectuée dans la seconde partie de ce travail, nous avons souvent constaté chez nos sujets la présence des uréides (allantoïne ou acide allantoïque). Nous avons parfois aussi mis en évidence l'acide urique par la méthode colorimétrique avec vérification à l'uricase. Ces expériences, effectuées sur des macérations obtenues à partir d'Insectes frais, ont fourni des résultats semi-quantitatifs, surtout indicatifs ; ils sont inclus dans le tableau récapitulatif final.

Les recherches rapportées dans ce chapitre vont avoir pour but de préciser les pourcentages d'acide urique et d'uréides glyoxyliques contenus dans les tissus séchés d'un certain nombre d'Insectes. Elles vont porter surtout sur des sujets pourvus d'enzymes uricolytiques (uricase seule, ou uricase et allantoïnase) et susceptibles d'élaborer allantoïne ou acide allantoïque. Il n'y sera fait allusion aux catabolites plus dégradés qu'à propos des quelques espèces pourvues d'allantoïcase. Les Insectes dépourvus de propriétés uricolytiques ont moins retenu notre attention. Ces analyses seront effectuées sur des imagos, ou des larves à leur dernier stade.

Tous les chiffres cités seront interprétés en liaison avec les résultats qualitatifs du tableau récapitulatif, dont ils doivent être considérés comme le complément. Il convient d'ailleurs d'accorder à ces chiffres une valeur surtout indicative, permettant de préciser l'importance de la teneur en acide urique et en uréides. On ne doit pas leur accorder une valeur absolue. La teneur en acide urique et en uréides peut en effet présenter des variations notables dans une espèce donnée. Jucci et Deiana (1930), Manunta (1934), Florkin (1937), Brighenti (1940, 1941) étudiant la teneur en acide urique des chenilles de *Bombyx mori*, ont observé de telles variations. Il en est de même chez *Phyllosamia ricini* (Brighenti, 1941), (Manunta, 1942). Nous avons nous-même remarqué ce fait plus particulièrement en ce qui concerne l'acide allantoïque.

## *SOUS-CLASSE DES APTÉRYGOTES*

### Ordre des Collemboles

L'espèce *Xenylla velchii* Folsom contient de l'acide allantoïque et probablement aussi de l'allantoïne. L'acide glyoxylique n'a pu être décelé chez cet Insecte, pourvu cependant d'une allantoïcase très active. L'urée n'a pas été recherchée.

Une uricolyse aussi poussée ne semble pas exister chez tous les Collemboles.

### Ordre des Thysanoures

Uréides glyoxyliques et enzymes uricolytiques ont été recherchés chez deux espèces de *Machilis*, chez *Halomachilis maritima* Leach et chez *Lepisma saccharina* L., et n'ont pas été rencontrés. Ces Insectes doivent donc être considérés comme uricotéliques. *Lepisma saccharina* contient un peu d'acide urique (0,06 % du poids sec).

## *SOUS-CLASSE DES PTÉRYGOTES*

## SECTION DES PALÉOPTÈRES

### Ordre des Ephéméroptères

La larve et l'imago d'*Ephemera vulgata* L. ne contiennent aucun uréide glyoxylique et semblent dépourvus de toutes propriétés uricolytiques.

### Ordre des Odonates

Aucun des Odonates examinés ne possède d'uréides glyoxyliques ni d'enzymes lui permettant d'en élaborer. On peut donc considérer ces Insectes comme uricotéliques. L'acide urique a été décelé chez quelques-uns d'entre eux ; il est peu abondant ; la teneur observée est indiquée ci-après :

| | Teneur % du poids sec en Acide urique |
|---|---|
| *Somatochlora metallica* V. d. Lind., larves. | 0,15 |
| *Ana sp.*, larves ..... | 0,12 |
| *Calopteryx splendens* Harr., larves ..... | 0,20 |

## SECTION DES POLYNÉOPTÈRES

### Ordre des Dictyoptères

| | Teneur % du poids sec en Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque |
|---|---|---|---|
| *Periplaneta americana* L. .. | 0,25 | 0,13 | 0,00 |
| *Blatta orientalis* L. ..... | 9,60 | 0,07 | 0,00 |
| *Blatella germanica* L. .... | 5,30 | 0,00 | 0,00 |
| *Ectobius sylvestris* F. .... | 3,40 | 0,03 | 0,00 |
| *Loboptera decipiens* Germ. | 4,70 | 0,04 | 0,00 |
| *Mantis religiosa* L. ..... | 1,77 | 0,00 | 0,00 |

Ces Insectes contiennent en général des quantités notables d'acide urique. On se souvient que chez eux la recherche de l'uricase aboutit le plus souvent à un résultat négatif. De plus, la plupart des Blattes accumulent les urates dans leur tissu adipeux dès leur stade embryonnaire, et pendant toute leur vie, au point de l'en saturer totalement (Cuénot, 1895 ; Faussek, 1911). Ayant nous-même analysé du tissu adipeux prélevé sur un exemplaire âgé de *Blabera craniifer* Burm., nous y avons observé une teneur en acide urique de 70 % du poids sec.

*Periplaneta americana* fait exception ; elle contient peu d'acide urique, par suite de l'action de son uricase probablement ; l'enzyme est en effet signalée chez cette espèce.

De petites quantités d'allantoïne sont observées chez quelques espèces qui nous avaient paru dépourvues d'uricase. Nous n'avons pu préciser l'origine de cet uréide.

### Ordre des Isoptères

Les Termites de France examinés ne contiennent pas d'uréides glyoxyliques et semblent dépourvus d'enzymes uricolytiques. Les Flagellés qui vivent en symbiose dans leur tube digestif seraient cependant pourvus de ces enzymes (Toth, 1952).

### Ordre des Plécoptères

Aucun uréide n'a été observé chez les Perles ; l'acide urique y a été mis en évidence. Ces Insectes ont cependant, en général, de l'allantoïnase.

### Ordre des Chéleutoptères

Quelques Phasmes contiennent des traces d'acide allantoïque ; on sait qu'ils sont surtout riches en acide urique (de Sinety, 1901 ; Florkin, 1937). Ils peuvent être pourvus d'une allantoïnase active, mais leur uricase est toujours douteuse.

### Ordre des Orthoptères

| | Teneur % du poids sec en Acide urique | Allantoïne | Acide allantoïque |
|---|---|---|---|
| *Conocephalus fuscus* F. ..... | 0,89 | 0,00 | 0,00 |
| *Pholidoptera grisoaptera* de Geer. .. | 0,28 | 0,05 | 0,00 |
| *Acheta domestica* L. ♂ ..... | 2,80 | 0,05 | 0,00 |
| » » ♀ ..... | 1,10 | 0,00 | 0,00 |
| *Locusta migratoria* L. ♂ ..... | 0,35 | 0,07 | 0,00 |
| » » ♀ ..... | 0,35 | 0,04 | 0,00 |
| *Schistocerca gregaria* Forsk. ♂ .... | 0,20 | 0,00 | 0,00 |
| » » ♀ .... | 0,20 | 0,05 | 0,00 |
| *Chortippus longicornis* Latr. ..... | 0,00 | 0,11 | 0,00 |

### Ordre des Dermaptères

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Forficula auricularia* L. ..... | 1,01 | 0,13 | 0,00 |

Orthoptères et Dermaptères contiennent surtout de l'acide urique, accompagné chez quelques espèces, par un peu d'allantoïne. L'uricolyse est fort réduite chez ces Insectes, si elle n'est pas totalement absente. L'origine de l'allantoïne observée n'est pas clairement établie, car cet uréide semble exister chez des espèces non pourvues d'uricase.

Nous nous arrêterons sur le cas d'*Acheta domestica*. Le mâle de cette espèce contient davantage d'acide urique que la femelle. Ce fait est en accord avec nos observations antérieures : l'uricase est en effet plus active chez la femelle... Nous n'avons pas trouvé chez ces Insectes d'uréides (ou seulement des traces) et ni urée, ni acide glyoxylique, bien que la présence des trois enzymes uricase, allantoïnase et allantoïcase y ait été constatée. Peut-être ces catabolites sont-ils repris dans le métabolisme général au fur et à mesure de leur formation ?

## SECTION DES PARANÉOPTÈRES

### Ordre des Hétéroptères

#### Sous-ordre des Gymnocérates

| | Teneur % du poids sec en Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque |
|---|---|---|---|
| *Graphosoma italicum* Müll. | 0,73 | 0,40 | 0,00 |
| *Palomena prasina* L. ..... | 3,90 | 0,79 | 0,00 |
| *Dolycoris baccarum* L. .... | 1,40 | 0,28 | 0,00 |
| *Carpocoris pudicus* Poda .. | 0,62 | 0,38 | 0,00 |
| *Carpocoris fuscispinus* Boh. | 0,40 | 0,44 | 0,00 |
| *Picromerus bidens* L. ..... | 2,50 | 0,25 | 0,00 |
| *Piezodorus lituratus* F. .... | 0,39 | 0,31 | 0,00 |
| *Aelia acuminata* L. ..... | 0,93 | 0,15 | 0,00 |
| *Rhaphigaster griseus* F. .. | 2,10 | 0,47 | 0,00 |
| *Syromastes marginatus* L. .. | 1,76 | 0,20 | 0,00 |
| *Myrmus miriformis* Fall. .. | 0,43 | 0,27 | 0,00 |
| *Heterogaster urticae* F. .... | 0,07 | 0,29 | 0,00 |
| *Pyrrhocoris apterus* L. .... | 0,34 | 0,41 | 0,00 |
| *Prostemma guttula* F. .... | 0,25 | 0,30 | 0,00 |
| *Nabis rugosus* L. Reut. .... | 0,42 | 0,25 | 0,00 |
| *Stenodema calcaratum* Fall. | 0,90 | 0,50 | 0,00 |
| *Stenodema laevigatum* L. .. | 0,24 | 0,14 | 0,00 |
| *Leptopterna ferrugata* Fall. | 1,12 | 0,59 | 0,00 |
| *Lygus rugulipennis* Pop. .. | 0,27 | 0,19 | 0,00 |
| *Lygus pratensis* L. ..... | 0,69 | 0,26 | 0,00 |
| *Calocoris ochromelas* Gmel. | 0,66 | 0,77 | 0,00 |
| *Stenotus binotatus* F. .... | 0,46 | 0,67 | 0,00 |
| *Capsodes cingulatus* F. .... | 0,58 | 0,32 | 0,00 |
| *Hydrometra stagnorum* L. . | 0,04 | 0,13 | 0,00 |
| *Gerris lacustris* L. ..... | 0,12 | 0,26 | 0,00 |
| *Aquarius najas* de Geer. ♂ | 0,10 | 0,13 | 0,00 |
| » » ♀ | 0,14 | 0,20 | 0,00 |

#### Sous-ordre des Cryptocérates

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Nepa rubra* L. ..... | 0,02 | 0,10 | 0,00 |
| *Ranatra linearis* L. ..... | 0,13 | 0,14 | 0,00 |
| *Naucoris cimicoïdes* L. .... | 0,05 | 0,11 | 0,00 |
| *Notonecta glauca* L. ..... | 0,07 | 0,15 | 0,00 |
| *Notonecta obliqua* Gallen. .. | 0,05 | 0,14 | 0,00 |
| *Notonecta viridis* Delcourt. | 0,02 | 0,12 | 0,00 |
| *Corixa punctata* Illig. .... | 0,06 | 0,00 | 0,00 |

Nous remarquons l'homogénéité des résultats. Nous nous souvenons que chez ces Insectes, la chaîne de l'uricolyse est courte, n'en comprenant que le premier chaînon, l'uricase. Cette enzyme oxyde

l'acide urique en allantoïne. Toutes les espèces étudiées ci-dessus, sauf *Corixa,* contiennent de l'allantoïne, en quantité variable certes, mais parfois assez importante. On en trouve même chez celles qui nous avaient semblé peu riches en uricase (Pentatomides, Lygéides, Coréides, Nabides...). Ceci nous ramène à l'hypothèse déjà envisagée de substances inhibitrices, peut-être sans action sur l'enzyme « in vivo », mais libérées dans nos macérations, et l'empêchant alors « in vitro » de remplir son action. L'allantoïne est toujours accompagnée d'acide urique, dont la teneur est parfois importante. Ce composé n'est peut-être qu'une étape transitoire du catabolisme ; mais on peut aussi se demander si certains de ces Insectes ne sont pas des uricotéliques mixtes, dégradant seulement une partie de leur acide urique en allantoïne. Enfin, la teneur en ces deux composés, acide urique et allantoïne, est toujours plus importante chez les espèces terrestres que chez les Aquatiques, qu'elles soient de surface ou de pleine eau. Chez les Cryptocérates, on peut penser que la teneur en acide urique est plus importante au moment des mues, car on a signalé alors une accumulation transitoire d'urates dans l'hypoderme dorsal (Poisson, 1925).

Il y a toutefois des exceptions : nous n'avons pas trouvé d'allantoïne chez *Cimex lectularius,* ni chez *Corixa punctata.* Ces espèces sont d'ailleurs dépourvues d'uricase.

### Ordre des Homoptères

Il n'a pas été effectué d'analyses quantitatives d'Homoptères. Ces Insectes semblent uricotéliques : ils n'ont en effet pas d'uricase, et ne contiennent aucun uréide. Quelques Aphides paraissent faire exception.

## SECTION DES OLIGONÉOPTÈRES

Les Oligonéoptères nous ont fourni déjà des résultats très intéressants. Beaucoup d'entre eux contiennent les enzymes uricase et allantoïnase, et sont donc théoriquement capables de conduire l'uricolyse jusqu'au stade acide allantoïque. En fait, on y trouve le plus souvent à la fois l'acide urique, l'allantoïne et l'acide allantoïque. Nous ne nous attarderons pas sur la présence de l'acide urique. Les observations déjà énoncées à son sujet peuvent être appliquées ici. Il peut être considéré soit comme un élément transitoire du catabolisme, soit comme un reste, non susceptible d'être dégradé.

Nous retiendrons surtout la présence chez nos sujets de l'allantoïne et de l'acide allantoïque. Certes, chez les espèces pourvues d'allantoïnase, l'allantoïne, comme l'acide urique, peut être considérée comme un élément transitoire du catabolisme, ou comme un

reliquat destiné à échapper à l'allantoïnase. L'acide allantoïque par contre est le catabolite terminal. La présence de ces deux uréides chez des Insectes pourvus des enzymes uricase et allantoïnase est la preuve de la réalité de l'uricolyse.

Les résultats seront groupés et discutés par super-ordres.

## SUPER-ORDRE DES COLÉOPTÉROIDES

### Ordre des Coléoptères

#### Sous-ordre des Heterogastra

| | Teneur % du poids sec en Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque |
|---|---|---|---|
| *Cantharis livida* L. ..... | 0,21 | 0,10 | 0,00 |
| *Cantharis fusca* L. ..... | 0,87 | traces | 0,11 |
| *Rhagonycha fulva* Scop. .. | 3,60 | 0,00 | 0,00 |
| *Malachius bipustulatus* F. .. | 0,44 | 0,09 | 0,00 |
| *Agriotes pilosus* Panz. .... | 0,70 | traces | 0,10 |
| *Adelocera murina* L. ..... | 0,69 | 0,06 | 0,13 |
| *Athous haemorroidalis* F. .. | 1,40 | 0,14 | 0,10 |
| *Selatosomus latus* L. ..... | 2,90 | 0,10 | 0,00 |
| *Chrysobothris affinis* F. .. | 0,09 | 0,25 | 0,00 |
| *Tenebrio molitor* L., larves. | 0,10 | 0,00 | 0,00 |
| » » nymphes. | 0,77 | 0,00 | 0,00 |
| » » imagos. | 0,08 | 0,00 | 0,00 |
| *Lagria hirta* L. ..... | 0,93 | 0,13 | 0,00 |
| *Adonia variegata* Goeze .. | 0,13 | 0,23 | 0,00 |

#### Sous-ordre des Adephaga

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Cicindela campestris* L. .... | 0,24 | 0,11 | 0,00 |
| *Hadrocarabus problematicus* Herbst ..... | 0,03 | 0,09 | 0,05 |
| *Chaetocarabus intricatus* L. | 0,04 | traces | traces |
| *Cychrus caraboïdes* L. .... | 0,05 | traces | 0,20 |
| *Amara tricuspidata* Dej. .. | 0,37 | traces | traces |
| *Acilius sulcatus* L. ..... | 0,00 | 0,06 | traces |
| *Dytiscus semisulcatus* Müll. larves ..... | 0,00 | 0,06 | 0,03 |

Tous les Coléoptères examinés, sauf quelques Aquatiques, contiennent de l'acide urique. Les espèces pourvues des enzymes uricase et allantoïnase élaborent aussi de petites quantités d'allantoïne et d'acide allantoïque ; c'est le cas de certains *Heterogastra* (Malacodermes du genre *Cantharis* ; Elatérides des genres *Agriotes, Adelocera, Athous, Selatosomus, Cidnopus*). Il en est de même chez de nombreux *Adephaga*.

On sait que de nombreux Coléoptères n'ont pas d'enzymes uricolytiques et ne peuvent élaborer ni allantoïne ni acide allan-

toïque : tels sont en particulier les Cérambycides, les Chrysomélides, la plupart des Scarabéides, les Ténébrionides.

On trouve cependant de petites quantités d'allantoïne chez quelques-uns de ces Insectes, tels que *Lagria hirta, Oreina tristis,* ainsi que chez la Coccinelle *Adonia variegata,* toutes espèces qui semblent dépourvues d'uricase. Il y en a aussi chez *Coccinella septem-punctata* et chez le Bupreste *Chrysobothris affinis,* dont les propriétés uricasiques ne sont pas clairement établies. Il en est signalé enfin chez le Hanneton *Popillia japonica* (Ludwig et Cullen, 1956). Peut-être s'opère-t-il « in vivo » chez toutes ces espèces une réelle uricolyse ?

## SUPER-ORDRE DES NÉVROPTÉROIDES

### Ordre des Mégaloptères

| | Teneur % du poids sec en | | |
|---|---|---|---|
| | Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque |
| *Sialis flavilatera* L., larves. | 0,02 | 0,03 | 0,10 |
| » » imagos. | 1,17 | 0,16 | 0,24 |

### Ordre des Plannipennes

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Chrysopa perla* L. ..... | 2,60 | 0,10 | 0,35 |
| *Chrysopa vulgaris* L. ..... | 0,20 | 0,16 | 0,20 |

La présence simultanée, chez tous les Névroptéroïdes examinés, de l'acide urique et des uréides glyoxyliques allantoïne et acide allantoïque est la preuve d'une uricolyse réelle, mais peut-être seulement partielle. L'acide allantoïque existe également chez *Raphidia* (Mégaloptères) et chez *Osmylus, Hemerobius* et la larve d'*Uroleon* (Plannipennes). Les larves de *Sialis* semblent avoir peu d'acide urique.

La différence dans les chiffres obtenus entre *Chrysopa perla* et *Chrysopa vulgaris* peut provenir du fait que l'une d'elle (*C. perla*) a été capturée au printemps, en pleine activité, tandis que l'autre (*C. vulgaris*) récoltée en novembre, était en hibernation, ce qui avait pu notablement diminuer son métabolisme.

## SUPER-ORDRE DES HYMÉNOPTÉROIDES

### Ordre des Hyménoptères

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Pteronidea ribesi* Scop., larves .... | 0,00 | 0,09 | 0,44 |
| *Croesus septentrionalis* L., larves .. | 0,17 | 0,05 | 0,30 |
| *Hemichroa crocea* Geoff., larves .... | 1,26 | 0,26 | 0,30 |
| *Formica rufa* L. ..... | 0,09 | 0,00 | 0,04 |
| *Vespula germanica* F. ..... | 0,11 | traces | 0,00 |
| *Vespa crabo* L., larves ..... | 0,54 | 0,00 | 0,00 |

Les larves de Tenthrèdes contiennent toujours des quantités notables d'acide allantoïque, accompagné parfois d'allantoïne et d'acide urique ; la présence des enzymes de l'uricolyse ne semble pas pourtant, chez certaines du moins, se manifester avec netteté.

Les Pétiolés, dans l'ensemble, sauf les Cynipides, semblent dépourvus d'enzymes uricolytiques. On trouve cependant, chez quelques-uns d'entre eux, parfois de façon transitoire, un peu d'acide allantoïque, ou d'allantoïne. On observe ce fait chez *Formica rufa* et chez quelques *Vespula*.

## SUPER-ORDRE DES MÉCOPTÉROIDES

### Ordre des Mécoptères

| | Teneur % du poids sec en Acide urique | Allantoïne | Acide allantoïque |
|---|---|---|---|
| *Panorpa communis* L. ..... | 0,30 | 0,00 | 0,13 |

### Ordre des Trichoptères

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Mystacides azurea* L. ..... | 0,23 | 0,10 | 0,24 |
| *Glyphotaelius pellucidus* Retz, larves. | 0,00 | 0,02 | 0,02 |

### Ordre des Diptères

**Sous-ordre des Nématocères**

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Tipula paludosa* Meig. ..... | 0,52 | 0,00 | 0,42 |
| *Tipula pagana* Meig. ..... | 0,41 | 0,09 | 0,53 |
| *Tipula oleracea* L. ..... | 0,48 | 0,06 | 0,43 |
| *Tipula truncorum* Meig. ..... | 1,70 | 0,07 | 0,38 |
| *Chironomus* sp., larves ..... | 0,10 | 0,00 | 0,00 |
| *Bibio marci* L., larves ..... | 0,00 | 0,04 | 0,41 |

**Sous-ordre des Brachycères**

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Scatophaga stercoraria* L. ..... | 0,66 | 0,11 | 0,00 |
| *Calliphora erythrocephala* Meig. .. | 0,05 | 0,16 | 0,00 |

### Ordre des Lépidoptères

**Super-famille des Psychoidea**

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Zygaena trifolii* Esp., chenilles .... | 0,43 | 0,13 | 0,00 |
| » » imagos .... | 2,83 | 0,00 | 0,00 |

**Super-famille des Bombycoïdea**

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Macrothylacea rubi* L. ..... | 0,25 | 0,00 | 0,08 |
| *Lasiocampa quercus* L., chenilles .. | 0,00 | 0,00 | 0,82 |
| *Gastropacha quercifolia* L., chenilles. | 0,90 | 0,00 | 0,21 |

| | Teneur % du poids sec en | | |
|---|---|---|---|
| **Super-famille des Papilionoidea** | Acide urique | Allantoïne | Acide allantoïque |
| *Papilio alexanor* Esp. | 6,42 | 0,48 | 0,20 |
| *Papilio pylades* F. | 2,30 | 0,19 | traces |
| *Papilio sinon* Poda | 0,31 | 0,13 | traces |
| *Pieris brassicae* L. | 2,96 | 0,06 | 0,13 |
| *Pieris napi* L. | 2,26 | 0,29 | 0,30 |
| *Pieris rapae* L. | 3,95 | 0,16 | 0,32 |
| *Leptidia sinapis* L. | 2,30 | 0,17 | 0,00 |
| *Gonepteryx rhamni* L. | 0,47 | 0,17 | 0,26 |
| *Anthocaris cardamine* L. | 1,36 | 0,19 | 0,50 |
| *Vanessa atalanta* L., chenilles | 0,70 | 0,00 | 0,13 |
| » » imagos | 0,38 | 0,13 | 0,56 |
| *Vanessa io* L., chenilles | 1,20 | 0,00 | 0,91 |
| *Aglais urticae* L., chenilles | 1,36 | 0,20 | 1,00 |
| » » imagos | 5,65 | 0,23 | 0,30 |
| *Argynnis pandora* Schiff. | 0,36 | 0,06 | 0,07 |
| *Boloria selene* Schiff. | 1,03 | 0,18 | 0,51 |
| *Pararge egeria* L. | 2,20 | 0,18 | 0,15 |
| *Epinephele jurtina* L. | 1,12 | 0,14 | 0,08 |
| *Coenonympha pamphilus* L. | 0,65 | 0,10 | 0,16 |
| *Callophrys rubi* L. | 4,08 | 0,18 | 0,09 |
| *Heteropterus morpheus* Pall. | 0,82 | 0,20 | 0,18 |
| *Adopoaea lineola* O. | 5,20 | 0,10 | 0,00 |
| *Augiades sylvanus* Esp. | 0,45 | 0,10 | 0,00 |
| **Super-famille des Geometroïdea** | | | |
| *Pseudopanthera macularia* L. | 1,05 | 0,16 | 0,00 |
| **Super-famille des Sphingoidea** | | | |
| *Hyloïcus ligustri* L. | 6,95 | 0,00 | 0,00 |
| **Super-famille des Noctuoidea** | | | |
| *Agrotis polygona* F., chenilles | 0,49 | traces | 0,09 |
| *Conistra vaccinii* L. | 2,17 | 0,25 | 0,91 |
| *Lycophotia saucia* Hb. | 0,84 | 0,13 | 0,80 |
| *Coscinia striata* L. | 0,42 | traces | 0,11 |
| *Arctia villica* L. | 0,34 | 0,00 | 0,15 |
| *Arctia caja* L., chenilles | 0,52 | 0,05 | 0,90 |
| *Tyria jacobaeae* L., chenilles | 2,92 | 0,11 | 0,85 |
| » » imagos | 0,82 | 0,06 | 0,14 |
| *Callimorpha quadripunctaria* Poda | 0,53 | 0,06 | 0,26 |

De nombreux Mécoptéroïdes contiennent de l'acide allantoïque, accompagné le plus souvent d'acide urique et d'allantoïne. Ces Insectes sont pourvus des enzymes uricase et allantoïnase, et l'acide allantoïque est chez eux, de façon indubitable, le catabolite terminal.

De tels résultats sont obtenus chez certains Nématocères (Tipulides, Bibionides). Il en est de même chez les Mécoptères et les Trichoptères et nous rappelons dans le tableau récapitulatif général

que la présence d'acide allantoïque a été constatée de façon seulement qualitative, mais indubitable, chez les divers imagos examinés de ces deux ordres.

Tel est aussi le cas d'un grand nombre de Lépidoptères. L'acide allantoïque est rencontré principalement chez les *Bombycoïdea,* les *Papilionoïdea,* les *Noctuoïdea* et certains sujets ont une teneur en uréides (acide allantoïque et allantoïne) supérieure à la teneur en acide urique. Ils en contiennent d'ailleurs aux trois stades (larvaire, nymphal et imaginal). Il n'a pas été effectué d'analyses quantitatives de chrysalides. Dans quelques cas, le tableau précédent contient des résultats concernant la chenille et l'imago d'une même espèce. Nous rappelons que les différences éventuellement observées dans les chiffres ainsi obtenus doivent être considérées comme traduisant des variations du métabolisme, variations seulement quantitatives, le plus souvent, et propres à l'espèce considérée. C'est ainsi que *Aglais urticae* contient davantage d'uréides au stade larvaire, son uricolyse étant alors plus active. C'est le contraire chez *Vanessa atalanta.* Ce point n'a été abordé que très sommairement dans ce travail, et devra faire l'objet de nombreuses recherches ultérieures.

Il y a des exceptions. Nous n'avons jusqu'ici jamais rencontré d'acide allantoïque chez les Diptères Brachycères ; quelques-uns d'entre eux contiennent de l'allantoïne ; nous savons que cet uréide est élaboré par les Mouches à larves créophages ; nous en avons décelé chez *Calliphora* ; *Scatophaga stercoraria* nous a paru en posséder aussi, bien que semblant dépourvue d'uricase. Nous n'avons rencontré aucun uréide chez les autres Brachycères examinés. Quant aux Nématocères eux-mêmes, certains d'entre eux ne contiennent pas d'uréides et nous semblent incapables de les élaborer. On n'en trouve nulle trace chez la larve aquatique de *Chironomus,* qui possède cependant de l'uricase.

Les larves des Trichoptères semblent beaucoup moins riches en acide urique et en uréides que les imagos. Des traces d'allantoïne et d'acide allantoïque semblent exister chez la larve de *Glyphotaelius* ; il y a aussi de toutes petites quantités d'acide allantoïque chez celle de *Grammotaulius* ; mais nous n'en avons pas décelé dans la larve de *Stenophylax rotundipennis* ni dans celle d'un *Limnophilus.* Il ne semble pas s'y trouver non plus d'acide urique... Que deviennent alors les composés d'origine purique chez ces larves ? Les enzymes de la chaîne de l'uricolyse semblant manquer, leur dégradation ne peut avoir lieu, du moins sous cette forme. Restent-ils à un stade moins dégradé que l'acide urique, ou subissent-ils des transformations selon un autre mode de catabolisme, non encore connu ? Nous l'ignorons. Nous avons toutefois remarqué que ces larves élaborent et éliminent dans le milieu ambiant un peu d'ammoniaque.

Chez les Lépidoptères aussi, on observe que diverses espèces ne

possèdent pas d'acide allantoïque, bien que pourvues d'une allantoïnase active. Certaines contiennent de l'allantoïne ; la présence de cet uréide reste à expliquer chez la chenille de *Zygaena*, qui n'a pas d'uricase. Enfin, il existe des Lépidoptères dépourvus de tout uréide : c'est le cas de l'imago d'*Hyloïcus ligustri*, et des *Yponomeuta*, à tous leurs stades.

## DISCUSSION ET CONCLUSION

Les résultats rapportés dans les pages qui précèdent montrent que les enzymes de l'uricolyse sont fonctionnelles chez les Insectes qui les possèdent. Ces sujets peuvent élaborer en effet et contenir soit uniquement de l'allantoïne, en cas de présence d'uricase seule, soit de l'acide allantoïque, accompagné éventuellement d'allantoïne, en cas de présence simultanée d'uricase et d'allantoïnase. Toutefois, l'absence d'uréides peut dans un cas donné provenir d'une élimination récente, et ne saurait à elle seule signifier une absence absolue d'uricolyse.

Certains cas semblent difficiles à interpréter : on note en effet la présence d'uréides chez des Insectes qui semblent dépourvus d'uricase (Dictyoptères ; Orthoptères Coelifères ; Dermaptères ; quelques Coléoptères ; certains Hyménoptères Pétiolés des genres *Formica, Vespula* ; Diptères du genre *Scatophaga* ; et divers Lépidoptères : *Zygaena, Bombyx, Parnassius*, imagos de *Pieris brassicae, Epinephele, Satyrus*). Trois hypothèses peuvent être envisagées pour expliquer la provenance de ces uréides :

1° Ils ont pu être apportés avec la nourriture,

2° Ils peuvent provenir de l'acide urique grâce à une uricase qui se serait trouvée inhibée dans les expériences effectuées,

3° Peut-être se sont-ils formés de façon synthétique à partir de composés azotés d'origine protidique selon des processus analogues à ceux qui sont connus chez les Vertébrés supérieurs, et qui aboutissent à la formation d'allantoïne (Ackroyd et Hopkins, 1916 ; Echevin, Brunel et Sartorius, 1940 ; Brunel et Capelle, 1947). Leifert (1935) signale l'existence d'une telle synthèse chez la chenille et la nymphe d'*Antherea pernyi* Guer, et affirme avoir constaté « in vitro » la formation d'allantoïne à partir d'urée et d'oxalate de sodium. Une autre synthèse, aboutissant à l'acide allantoïque, a été mise en évidence chez des Champignons à partir d'acide glyoxylique et d'urée (Brunel et Brunel-Capelle, 1951) ; elle n'est pas connue jusqu'ici chez les Insectes.

Il ne nous a pas été possible de nous étendre sur la localisation de tous ces corps chez nos sujets. Nous avons déjà mentionné que les très nombreux mémoires consacrés depuis plus d'un siècle à l'acide urique chez les Insectes l'ont signalé dans les divers organes des sujets qui en possèdent : dans le tube digestif, les tubes de Malpighi, le tissu adipeux, le tégument, l'hémolymphe. La chromatographie sur papier nous a permis de le mettre en évidence dans le tissu adipeux de la Blatte *Blabera craniifer* Burm., dans son hémolymphe, et aussi dans l'hémolymphe des larves des Hyménoptères Tenthrédoïdes : *Diprion pini* L., *Pteronidea salicis* L., *Pteronidea peocilonata* Zad., *Croesus septentrionalis* L., *Hemichroa crocea* Geoff., ainsi que chez celle du Coléoptère *Dorcus parallelipipedus* L.. L'hémolymphe peut aussi contenir de l'acide allantoïque : c'est le cas des larves de Tenthrèdes signalées ci-dessus, et des chenilles des Lépidoptères : *Vanessa io* L., *Aglais urticae* L., et *Agrotis comes* Tr.. Quant à l'acide urique et à l'allantoïne signalés par divers auteurs sur les ailes de Lépidoptères du groupe des Piérides (Wigglesworth, 1924 ; Schöpf, Kottler et Reichert, 1939 ; Tartter, 1940 ; Timon-David, 1945-1947), nous les y avons aussi décelés, mais en très faibles quantités, comme le prouvent les chiffres ci-après :

| | Teneur % du poids sec en | |
|---|---|---|
| | Acide urique | Allantoïne |
| Ailes de *Pieris brassicae* .. | 0,76 | 0,82 |
| Ailes de *Pieris rapae* .... | 0,42 | 0,23 |

Nous avons déjà fait remarquer que la mise en évidence chromatographique de l'acide urique dans les macérations d'Insectes frais pouvait présenter un intérêt particulier, car on peut penser qu'alors il est resté sous la même forme soluble que chez l'animal vivant. En fait, les Rf alors constatés sont quelque peu variables. Nous avons obtenu parfois des taches de Rf 0,30, à peu près égal à l'urate d'ammonium de référence. Souvent, il semble que l'on se trouve plutôt en présence de diurate de sodium (Rf 0,25). Nous avons noté aussi des Rf un peu inférieurs. On peut se demander si l'acide urique présent, au lieu d'exister sous forme saline, ne se trouve pas plutôt sous une forme organique conjuguée, rappelant celle qui a été observée dans le sang et l'urine de l'Homme (Rangier, Thiroux, de Traverse, 1957). Nous rejoignons peut-être ainsi l'opinion de Drilhon et Florence (1946) qui signalent que l'acide urique des Insectes semble parfois adsorbé sur des colloïdes protéiques.

## III. — ACIDE URIQUE ET SES CATABOLITES DANS LES EXCRETA DES INSECTES PTÉRYGOTES

Nous avons considéré que la présence simultanée, chez une espèce donnée, des enzymes permettant le catabolisme de l'acide urique, et des catabolites formés grâce à leur action, est une preuve de la réalité de la dégradation de l'acide urique chez cette espèce. On pourra considérer de façon plus sûre encore ces catabolites comme des éléments terminaux du catabolisme lorsqu'aura été démontrée leur élimination à l'extérieur. C'est pourquoi nous avons recherché ces corps dans les excreta de nombreuses espèces d'Insectes.

Dans cette série de recherches, nous nous sommes surtout adressé, ainsi que dans le cas précédent, aux espèces chez lesquelles nous avons pu antérieurement mettre en évidence les enzymes de la chaîne de l'uricolyse (uricase, allantoïnase). Nos documents ne concernent que des excreta de Ptérygotes, car il ne nous a pas été possible de nous procurer d'excreta d'Aptérygotes.

Ces opérations, effectuées selon les mêmes protocoles que précédemment, nous ont permis de connaître la teneur des excreta analysés en acide urique, en allantoïne et en acide allantoïque. Dans divers cas, nous avons, en outre, recherché l'urée (par chromatographie) et l'ammoniaque.

Nous allons rassembler les résultats des recherches se rapportant à l'acide urique et aux uréides en des tableaux qui occuperont les pages ci-après (1).

### SECTION DES POLYNÉOPTÈRES

Les Insectes de cette section émettent des excreta assez homogènes, de taille généralement appréciable, donc faciles à récolter et à analyser.

(1) Dans quelques cas, nous ne pouvons donner la teneur en allantoïne, nos analyses ayant été effectuées à une époque où nous ne possédions pas une allantoïnase suffisamment active pour obtenir des résultats valables.

| | Teneur % des excreta secs en Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque |
|---|---|---|---|
| **Ordre des Dictyoptères** | | | |
| *Blabera craniifer* Burm. | 0,09 | 0,00 | 0,00 |
| *Blatta orientalis* L. | 0,07 | 0,07 | 0,11 |
| *Periplaneta americana* L. | 0,09 | traces | 0,00 |
| *Blatta germanica* L. | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| *Mantis religiosa* L. | 10,7 | 0,09 | 0,00 |
| **Ordre des Chéleutoptères** | | | |
| *Carausius morosus* Br. | 0,11 | 0,16 | 0,07 |
| *Sypylloidea sypylus* W. | 5,6 | | 0,20 |
| **Ordre des Orthoptères** | | | |
| *Acheta domestica* L. | 5,20 | 0,05 | 0,06 |
| *Tettigonia viridissima* L. | 12,1 | 0,13 | 0,00 |
| *Locusta migratoria* L. | 4,55 | 0,00 | 0,50 |
| *Schistocerca gregaria* Forsk. | 4,13 | 0,00 | 0,00 |
| **Ordre des Dermaptères** | | | |
| *Forficula auricularia* L. | 5,9 | | 0,00 |

Certains de ces excreta contiennent des quantités importantes de résidus alimentaires, il ne faut donc pas être étonné de leur faible teneur en composés d'origine purique.

Nous avons vu que quelques Blattes accumulent dans leur tissu adipeux des quantités parfois importantes d'acide urique. Par contre, elles semblent n'en éliminer que fort peu à l'extérieur. Les Mantes en excrètent beaucoup plus. Quant aux uréides qui semblent aussi présents dans leurs excreta, on peut se demander s'ils n'ont pas une autre provenance qu'une oxydation enzymatique de l'acide urique. En effet, l'uricase semble manquer chez presque toutes les espèces étudiées. C'est pourquoi nous considérons comme possible l'origine alimentaire de ces composés. Cette hypothèse nous est suggérée par le fait que nos sujets reçoivent fréquemment en nourriture des feuilles de *Lactuca* et nous avons pu constater que cette plante contient des quantités notables d'uréides glyoxyliques.

Le problème est un peu différent chez les Chéleutoptères. Certes, l'uricase y semble peu active « in vitro ». On peut admettre néanmoins que « in vivo » il se manifeste une certaine uricolyse, toujours limitée, proportionnellement plus importante chez *Carausius*. Les plantes qui leur sont données en nourriture (lierre et ronce) n'apportant ni allantoïne, ni acide allantoïque, il est permis de considérer les uréides présents dans les excreta de *Carausius* et de *Sypylloidea* comme provenant du catabolisme purique. L'espèce indigène *Clonopsis gallica* Charp. semble par contre dépourvue de propriétés uricolytiques.

Les Orthoptères proprement dits éliminent des quantités notables d'acide urique. Ce fait avait déjà été remarqué par Brown

(1936) et par Chauvin (1941) à propos d'Acridiens. On observe que certains éliminent aussi de petites quantités d'uréides. Presque tous sont pourvus certes d'allantoïnase, mais l'uricase y semble plutôt faible, quand elle ne manque pas totalement. C'est pourquoi une toute petite partie seulement des corps puriques semble catabolisée, et même on n'est pas absolument sûr que les uréides présents dans les excreta proviennent toujours de l'oxydation enzymatique de l'acide urique.

Les Polynéoptères sont caractérisés par le fait qu'ils sont surtout, certains même exclusivement, uricotéliques, les uns accumulant l'acide urique dans leur tissu adipeux, tandis que les autres l'évacuent à l'extérieur.

## SECTION DES PARANÉOPTÈRES

Dans cette section, seuls les Hémiptéroïdes ont donné lieu à des recherches de notre part. Ces Insectes comprennent deux Ordres : les Hétéroptères et les Homoptères. Nous nous souvenons que les premiers, les Hétéroptères, sont à peu près tous pourvus d'uricase ; cette enzyme est même chez certains très active ; ils contiennent aussi des quantités variables d'allantoïne. Les Homoptères, par contre, sont dans l'ensemble dépourvus d'enzymes uricolytiques. Il était intéressant pour nous de savoir si l'allantoïne formée par les Hétéroptères est réellement évacuée au dehors. Ces Insectes étant suçeurs, n'absorbent qu'une alimentation liquide, et n'éliminent de même que des excreta fluides et peu abondants. Des recherches qualitatives effectuées d'abord sur des excreta de *Micrelytra fossularum*, de *Pyrrhocoris apterus*, et d'*Aquarius najas* nous ont permis de déceler de l'allantoïne proportionnellement abondante dans le matériel fourni par les deux dernières espèces, tandis que les excreta de *Micrelytra* semblaient plutôt riches en acide urique.

Nous avons recueilli sur papier filtre les excreta de quelques Insectes de cet ordre, avons évalué leurs poids, de façon aussi exacte que possible, en opérant selon le protocole déjà indiqué. Leur analyse nous a donné la teneur suivante en acide urique et en uréides :

| | Teneur % des excreta secs en | | |
|---|---|---|---|
| | Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque |
| *Palomena prasina* L. ..... | 1,34 | 2,06 | 0,00 |
| *Rhaphigaster griseus* F. .. | 0,00 | 8,97 | 0,00 |
| *Syromastes marginatus* L. .. | 8,00 | 0,72 | 0,00 |
| *Pyrrhocoris apterus* L. .... | 2,83 | 3,33 | 0,00 |
| *Verlusia rhombea* L. ..... | 3,33 | 3,83 | 0,00 |
| *Phymata crassipes* F. .... | 12,0 | 1,43 | 0,00 |
| *Micrelytra fossularum* Rossi. | 20,3 | 0,37 | 0,00 |

Les Hétéroptères doivent être considérés pour la plupart comme des uricotéliques mixtes, éliminant une fraction variable de leur acide urique et en dégradant une autre fraction grâce à leur uricase, jusqu'au stade allantoïne, et l'expulsant sous cette forme. L'uricolyse, peu importante chez certaines espèces (*Syromastes, Micrelytra*), affecte par contre chez d'autres (*Palomena, Pyrrhocoris, Verlusia*) la plus grande partie de l'acide urique. Les excreta de *Raphigaster* analysés contenaient seulement de l'allantoïne. Nous ne pouvons affirmer toutefois, faute de documents suffisants, que cette espèce n'élimine jamais de l'acide urique.

Le métabolisme des Hétéroptères hématophages suçeurs de sang d'Homéothermes est peut-être seulement uricotélique. Wigglesworth (1931) a montré l'élimination d'acide urique chez *Rhodnius,* et nous rappelons qu'il n'y a chez *Cimex lectularius* ni enzyme uricolytique, ni aucun uréide.

## SECTION DES OLIGONÉOPTÈRES

Dans cette section sont groupés tous les Insectes à métamorphoses complètes, les Holométaboles, dont le cycle vital comprend deux stades actifs, le stade larvaire et le stade imaginal, séparés par un état généralement immobile, le stade nymphal.

Nous avons recueilli les excreta de divers sujets au stade larvaire et au stade imaginal, et les avons analysés.

Pendant le stade nymphal, il n'y a ni prise de nourriture, ni élimination. Les déchets du catabolisme sont accumulés, rassemblés dans le rectum lors de l'éclosion imaginale, puis expulsés sous forme d'une liqueur crémeuse, le « méconium », après un laps de temps variable, de quelques heures en général. Utilisant toujours le même procédé dans le cas d'excreta fluides, nous avons récolté sur papier-filtre le méconium de diverses espèces, l'avons séché, avons évalué le poids de substance ainsi récolté, puis l'avons analysé.

### Ordre des Coléoptères

Nous n'avons analysé que quelques excreta de Coléoptères ; ils nous ont fourni les chiffres ci-après :

| | Teneur % des excreta secs en | | |
|---|---|---|---|
| | Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque |
| *Chrysobothris affinis* F. .. | 4,00 | 4,80 | 0,00 |
| *Agelastica alni* L. ..... | 1,26 | —— | 0,00 |
| *Melolontha vulgaris* F. .... | 5,00 | 0,00 | 0,00 |
| *Procrustes coriaceus* L. .. | 13,0 | 1,34 | 0,00 |
| *Chaetocarabus intricatus* L. | 14,6 | 0,27 | 0,44 |
| *Calosoma sycophanta* L. .. | 22,3 | —— | 0,71 |

Les excreta de Carabiques (*Chaetocarabus, Procrustes, Calosoma*) étant très fluides ont été recueillis sur papier-filtre. Ils contiennent de grandes quantités d'acide urique et peu d'uréides. On peut admettre que chez ces Insectes il existe une uricolyse légère se superposant à une uricotélie importante. Il en est peut-être de même chez les Dytiques qui éliminent des quantités importantes d'acide urique (Drilhon et Busnel, 1943).

Le Bupreste *Chrysobothris affinis* élimine à la fois de l'acide urique et de l'allantoïne. Nous avons déjà mis l'allantoïne en évidence dans ses tissus. Il semble qu'une uricolyse importante se manifeste chez cet Insecte, uricolyse limitée à son premier chaînon, celui qui amène la formation d'allantoïne.

Les autres Coléoptères examinés, *Agelastica, Melolontha,* nous paraissent uniquement uricotéliques.

### Ordre des Plannipennes

On sait que les larves des Insectes de cet ordre ont un tube digestif discontinu, et que par suite, leurs excreta ne représentent que les produits de leur catabolisme, à l'exclusion de tout détritus alimentaire. Ces excreta sont émis avant la nymphose, et se présentent sous la forme de petits cylindres allongés, blanchâtres. Nous avons pu nous en procurer quelques-uns, et les avons analysés.

| | Teneur % des excreta secs en | | |
|---|---|---|---|
| | Acide urique | Allantoïne | Acide allantoïque |
| *Uroleon nostras* Fourn. (larv.) .... | 32,8 | 0,83 | 0,00 |

Ces formations contiennent une grande quantité d'acide urique (1/3 de leur poids) et un peu d'allantoïne ; on n'y trouve pas d'acide allantoïque. La larve d'*Uroleon* contient cependant un peu d'allantoïnase et même de l'acide allantoïque.

### Ordre des Hyménoptères

Les larves éruciformes des Hyménoptères Tenthrédoïdes sont phytophages et forment parfois des populations importantes sur des végétaux divers. Comme chez tous les phytophages à appareil buccal broyeur, elles absorbent de grandes quantités de matériel, et excrètent de petites masses cylindriques, faciles à recueillir et à analyser, formées en grande proportion de résidus alimentaires, mais contenant aussi des déchets du catabolisme.

Les excreta analysés proviennent tous de larves à leur dernier stade. Ces larves, capturées dans la nature, ont été nourries au laboratoire sur leur plante hôte. Nous indiquerons le nom de cette plante entre parenthèses après celui de l'Insecte.

| | (Plante hôte) | Teneur % des excreta secs en Acide urique | Allantoïne | Acide allantoïque |
|---|---|---|---|---|
| *Empria pulverata* Retz. | (*Alnus glutinosa*) | 0,44 | 0,17 | 0,19 |
| *Hemichroa alni* L. | *id.* | 1,67 | 0,00 | 0,00 |
| *Hemichroa crocea* Geof. | *id.* | 1,08 | 0,19 | 0,06 |
| *Priophorus pallipes* Lep. | (*Rubus sp.*) | 1,40 | 0,05 | 0,03 |
| *Platycampus luridiventris* Fal. | (*Alnus glutinosa*) | 3,40 | | 0,00 |
| *Croesus latipes* Vill. | (*Betula alba*) | 0,13 | 0,11 | 0,00 |
| *Croesus septentrionalis* L. | (*Alnus glutinosa*) | 2,25 | 0,15 | 0,11 |
| *Pteronidea ribesi* Scop. | (*Ribes sp.*) | 0,18 | 0,23 | 0,21 |
| *Pteronidea salicis* L. | (*Salix cinerea*) | 3,70 | 0,12 | 0,21 |
| *Pteronidea salicis* L. | (*Salix babylonica*) | 0,32 | 0,10 | 0,21 |
| *Cimbex quadrimaculatus* Müll. | (*Pirus communis*) | 0,53 | | 0,18 |
| *Diprion pini* L. | (*Pinus pinaster*) | 0,58 | 0,17 | 0,00 |

Il convient de noter la prédominance de l'acide urique dans presque tous les cas... Mais il est souvent accompagné de petites quantités d'allantoïne et d'acide allantoïque ou seulement d'allantoïne. Bien que la recherche des enzymes uricolytiques chez ces Insectes ait donné des résultats parfois douteux, il semble permis d'admettre chez eux une uricolyse partielle, mais réelle. Nous avons d'ailleurs vérifié que les végétaux consommés n'apportent pas d'uréides.

Nous remarquons qu'à une même nourriture peuvent correspondre, selon les espèces, des bilans cataboliques différents ; nous avons étudié cinq espèces nourries de feuilles d'*Alnus glutinosa* ; certaines d'entre elles éliminent des quantités appréciables d'acide urique, et pratiquement pas d'uréides (*Hemichroa alni*, *Platycampus luridiventris*), tandis que les autres excrètent à la fois un peu d'acide urique et de petites quantités d'uréides. Les éléments du métabolisme sont certes apportés avec la plante nourricière, mais les produits terminaux de ce métabolisme dépendent des propriétés enzymatiques propres aux espèces étudiées.

L'abondance plus ou moins grande de certains éléments dans la nourriture peut toutefois se répercuter sur le bilan éliminé. Ainsi l'importance du taux d'acide urique dans les excreta des larves de *Pteronidea salicis* lorsqu'elles sont nourries avec des feuilles de Saule gris ne peut s'expliquer que par un apport particulier effectué grâce à cette nourriture.

Nous remarquons l'absence d'acide allantoïque dans les excreta des larves de *Diprion pini*, alors que cet uréide est présent en quantité appréciable dans leur hémolymphe.

En ce qui concerne les Pétiolés, nous avons analysé seulement du méconium de *Vespa crabro* L.. En accord avec Becker (1937), nous y avons trouvé une quantité notable d'acide urique (16,4 %), mais pas d'allantoïne ni d'acide allantoïque.

## Ordre des Diptères

| | Teneur % des excreta secs en Acide urique | Allantoïne | Acide allantoïque |
|---|---|---|---|
| **Sous-ordre des Nématocères** | | | |
| *Tipula paludosa* Mg. imagos ..... | 4,5 | 1,37 | 2,80 |
| *Bibio marci* L., larves ..... | 0,05 | 0,11 | 0,04 |
| **Sous-ordre des Brachycères** | | | |
| *Compsilura concinnata* Mg. imagos. | 17,8 | 0,78 | 0,00 |

Les Nématocères du groupe *Tipula* sont pourvus d'uricase et d'allantoïnase actives. Leurs excreta, très fluides, et de très faible volume, ont été recueillis sur papier filtre ; ils contiennent de l'acide urique, de l'allantoïne et de l'acide allantoïque. On doit admettre qu'une fraction importante de l'acide urique, près de la moitié, est dégradée par voie enzymatique et éliminée sous forme d'allantoïne ou d'acide allantoïque.

Les larves de *Bibio marci* éliminent des excreta très pauvres en acide urique et en acide allantoïque, mais un peu plus riches en allantoïne. Nous avons pourtant observé précédemment chez ces larves une teneur notable en acide allantoïque.

Le Brachycère *Compsilura concinnata* appartient au groupe des Tachynides et vit à l'état larvaire en endoparasite dans les chrysalides du Lépidoptère *Pieris brassicae*. Or ces chrysalides contiennent de l'acide allantoïque. Les excreta analysés ci-dessus, qui comprennent surtout le méconium n'en possèdent pas. On y trouve de l'acide urique en grande quantité et un peu d'allantoïne. Chez cette espèce l'uricolyse est très faible aux stades pré-imaginaux, et s'arrête à l'allantoïne.

## Ordre des Lépidoptères

Dans nos recherches, nous avons attaché une grande importance aux résultats fournis par les Lépidoptères. Cela tient certes au fait que ce sont des Insectes de taille appréciable, faciles à capturer et à élever, dont les excreta peuvent être aisément recueillis, surtout au stade larvaire. Cela vient surtout de ce que dès le début de notre travail, nous avons obtenu avec certains d'entre eux des résultats jugés particulièrement intéressants. C'est en effet dans les excreta de chenilles de Papillons que nous avons décelé pour la première fois des quantités notables d'acide allantoïque. On se souvient d'ailleurs que la recherche des enzymes uricolytiques a

donné chez les Lépidoptères des résultats le plus souvent positifs, parfois même très importants.

Au stade larvaire, les excreta sont particulièrement faciles à recueillir, mais comme toujours dans le cas des phytophages à appareil buccal broyeur, ils contiennent des quantités notables de résidus alimentaires. Il est d'ailleurs nécessaire de vérifier si les uréides recherchés dans les excreta ne se trouvent pas déjà dans la nourriture.

Pendant le stade nymphal, les déchets du métabolisme sont rassemblés dans le méconium, expulsé peu après l'éclosion imaginale. Comme nous l'avons déjà indiqué, nous avons récolté ce méconium sur papier filtre dans de nombreux cas.

L'imago ne prend qu'une nourriture fluide : avec sa trompe, il aspire le nectar secrété par les fleurs. En captivité, il accepte très volontiers de se nourrir d'eau miellée. Ainsi alimenté, le papillon émet des excreta semi-liquides que nous avons recueillis sur papier-filtre, de la même façon que le méconium. Dans les cas où il nous a été possible d'en récolter des quantités suffisantes, nous les avons séchés, avons évalué leur poids, et les avons analysés. Nous avons déjà exposé la méthode adoptée. Nous insistons sur le fait que, malgré toutes les précautions prises, nos évaluations pondérales des substances ainsi récoltées sur papier-filtre (méconium, excreta d'imagos) doivent être acceptées avec prudence, et les chiffres provenant de leur analyse doivent être considérés comme indiquant des ordres de grandeur plutôt que des valeurs absolues.

Nous allons faire connaître les résultats des analyses des excreta d'un certain nombre de Lépidoptères. Ces résultats sont classés en deux groupes principaux. Les chiffres cités dans le premier indiquent seulement une comparaison entre la teneur des excreta aux 3 stades principaux de la vie : excreta des chenilles peu avant la nymphose, méconium, excreta des imagos.

Nous reviendrons ensuite sur la teneur des excreta des chenilles et chercherons à connaître cette teneur pendant la totalité ou seulement pendant la dernière partie de la vie larvaire.

### a) Excreta émis à chacun des 3 états principaux

(1) Excreta des chenilles au dernier stade.

Comme nous l'avons indiqué ci-dessus, nous donnons ici les analyses des excreta émis par les chenilles peu avant leur nymphose. Les chiffres rapportés dans ce tableau n'ont guère qu'une valeur indicative, car nous verrons que la teneur en acide urique et en uréides des excreta d'une chenille peut varier considérablement pendant la croissance de cette chenille.

Cette teneur peut être influencée dans une certaine mesure, par

la nourriture ingérée. C'est pourquoi nous avons noté les plantes consommées par nos sujets, et les signalons dans notre tableau.

| | (Plante hôte) | Teneur % des excreta secs en Acide urique | Allantoïne | Acide allantoïque |
|---|---|---|---|---|
| **Super-famille des Tineoidea** | | | | |
| *Leucoptera spartifoliella* Hn. | (*Sarothamnus scoparius*) | 8,7 | | 0,34 |
| **Super-famille des Psychoidea** | | | | |
| *Fumea casta* L. | (*Rubus sp.*) | 3,30 | | 0,00 |
| *Zygaena filipendulae* L. | (*Trifolium sp.*) | 14,5 | 0,53 | 0,24 |
| **Super-famille des Pyraloidea** | | | | |
| *Pionea forficalis L.* | (*Raphanus sp.*) | 9,90 | | 0,17 |
| **Super-famille des Bombycoïdea** | | | | |
| *Saturnia pavonia* L. | (*Pirus malus*) | 1,00 | 0,00 | 0,00 |
| *Cosmotriche potatoria* L. | (*Senecio vulgaris*) | 1,80 | | 0,70 |
| » » | (Graminées) | 0,92 | 0,11 | 0,11 |
| *Gastropacha quercifolia* L. | (*Prunus spinosa*) | 0,60 | 0,13 | 0,00 |
| *Lasiocampa trifolii* Esp. | (*Hordeum murinum*) | 0,63 | 0,34 | 3,80 |
| » » | (*Prunus spinosa*) | 0,50 | 0,25 | 3,40 |
| » » | (*Betulus alba*) | 2,80 | 0,60 | 1,90 |
| » » | (*Rubus sp.*) | 0,66 | 0,45 | 2,36 |
| *Lasiocampa quercus* L. | (*Rubus sp.*) | 0,71 | 0,00 | 0,39 |
| » » | (*Sarothamnus scoparius*) | 0,00 | 0,00 | 1,18 |
| » » | (*Alnus glutinosa*) | 0,00 | 0,25 | 1,10 |
| *Poecilocampa populi* L. | (*Quercus sp.*) | 4,20 | 0,22 | 0,71 |
| *Macrothylacea rubi* L. | (*Rubus sp.*) | 1,92 | 0,00 | 0,24 |
| *Malacosoma neustria* L. | (*Pirus malus*) | 0,16 | 0,09 | 0,03 |
| **Super-famille des Papilionoidea** | | | | |
| *Pieris brassicae* L. | (*Brassica oleracea*) | 0,70 | 0,40 | 2,48 |
| *Pieris rapae* L. | (id.) | 1,90 | 0,00 | 2,45 |
| *Gonepteryx rhamni* L. | (*Rhamnus sp.*) | 1,72 | 0,12 | 0,32 |
| *Vanessa atalanta* L. | (*Urtica dioïca*) | 3,40 | 0,89 | 0,67 |
| *Vanessa c-album* L. | (*Prunus sp.*) | 1,14 | 0,27 | 0,34 |
| *Vanessa io* L. | (*Urtica dioïca*) | 1,90 | 0,09 | 3,40 |
| *Aglais urticae* L. | (*Urtica dioïca*) | 1,90 | 0,62 | 3,40 |
| *Melitaea didyma* O. | (*Plantago sp.*) | 1,78 | | 1,81 |
| **Super-famille des Geometroïdea** | | | | |
| *Abraxas grossulariata* L. | (*Ribes sp.*) | 2,22 | 0,12 | 0,00 |
| *Cabera pusaria* L. | (*Alnus glutinosa*) | 2,15 | 0,15 | 0,00 |
| *Boarmia consortaria* F. | (*Quercus sp.*) | 3,30 | 0,14 | 0,00 |
| *Boarmia roboraria* Schiff. | (id.) | 4,07 | 0,06 | 0,00 |

| | (Plante hôte) | Teneur % des excreta secs en Acide urique | Allantoïne | Acide allantoïque |
|---|---|---|---|---|
| **Super-famille des Sphingoidea** | | | | |
| *Herse convolvuli* L. | (*Convolvulus sp.*) | 1,68 | 0,17 | 0,00 |
| *Hyloïcus ligustri* L. | (*Ligustrum vulgaris*) | 0,30 | 0,00 | 0,00 |
| *Mimas tiliae* L. | (*Tilia sp.*) | 4,10 | 0,11 | 0,00 |
| *Pergesa elpenor* L. | (*Rubia sp.*) | 3,80 | 0,20 | 0,00 |
| **Super-famille des Noctuoidea** | | | | |
| *Arctia caja* L. | (Graminées) | 1,16 | 0,30 | 0,30 |
| *Tyria jacobaeae* L. | (*Senecio communis*) | 2,10 | 0,08 | 0,30 |
| *Euxoa segetum* Schiff. | (*Raphanus sp.*) | 6,23 | 0,10 | 0,69 |
| *Agrotis comes* Tr. | (*Senecio vulgaris*) | 1,00 | 0,03 | 1,50 |
| *Agrotis polygana* F. | (*Ribes sp.*) | 2,32 | 0,09 | 0,07 |
| *Agrotis pronuba* L. | (*Raphanus sp.*) | 1,40 | 0,15 | 1,33 |
| *Agrotis ypsilon* Rott. | (*Senecio vulgaris*) | 2,64 | 0,05 | 0,16 |
| *Miselia pisi* L. | (*Pteris aquilina*) | 2,90 | 0,13 | 0,07 |
| » » | (*Sarothamnus scoparius*) | 3,50 | 0,44 | 0,21 |
| *Mammestra brassicae* L. | (*Brassica oleracea*) | 0,69 | 0,16 | 1,40 |
| *Conistra vaccinii* L. | (*Prunus pissardi*) | 1,65 | 0,10 | 0,08 |
| *Amathes lychnidis* Schiff. | (*Senecio vulgaris*) | 1,85 | 0,63 | 0,69 |
| *Trigonophora meticulosa* L. | (*Senecio vulgaris*) | 7,40 | 0,16 | 0,90 |
| » » | (*Gladiolus sp.*) | 1,20 | 0,17 | 0,00 |
| » » | (*Chrysanthemum sp.*) | 4,80 | 0,00 | 0,00 |
| *Acronycta rumicis* L. | (*Alnus glutinosa*) | 3,10 | | 0,33 |
| *Catocala promissa* L. | (*Quercus sp.*) | 3,10 | | 0,00 |
| *Phytometra gamma* L. | (*Urtica dioïca*) | 4,10 | 0,25 | 0,12 |
| *Lymantria dispar* L. | (*Pirus malus*) | 1,80 | | 0,16 |
| *Orgyia gonostigma* F. | (*Prunus spinosa*) | 4,50 | 0,13 | 0,00 |
| *Stilpnotia salicis* L. | (*Salix sp.*) | 2,90 | | 0,00 |
| *Euproctis chrysorrhaea* L. | (*Prunus spinosa*) | 1,15 | | 0,14 |
| *Euproctis phaeorrhaea* Hw. | (id.) | 2,41 | 0,14 | 0,08 |

Les résultats sont variables selon les sous-ordres. Ces excreta des chenilles contiennent, dans de nombreux cas, à la fois de l'acide urique et des uréides glyoxyliques. Nous remarquons toutefois que chez les *Sphingoïdea* et les *Geometroïdea*, il n'y a jamais élimination d'acide allantoïque. On trouve par contre, de l'acide urique, en quantités parfois notables, souvent accompagné d'un peu d'allantoïne. A l'état larvaire, on doit considérer les Géomètres et les Sphinx comme presque complètement uricotéliques.

Les *Tineoïdea* et les *Pyraloïdea* cités ci-dessus éliminent de petites quantités d'acide allantoïque et d'allantoïne, mais l'acide urique prédomine toujours dans leurs excreta. Nous avons aussi recherché l'acide allantoïque dans les excreta de diverses espèces d'*Yponomeuta* (*Y. padella* L., *Y. malinellus Z.*, *Y. cognatella* Hb. sans en rencontrer. On peut en conclure que, chez eux, l'uricolyse

est peu importante, quand elle existe. On sait que les excreta de *Tinolea biselliella* Hum., de *Tinea pellionella* L., de *Galleria mellonella* L., et de *Ephestia kuehniella* contiennent des quantités d'acide urique allant de 28 à 45 % (Schulz, 1925 ; Hollande et Cordebard, 1926 ; Payne, 1936 ; Mosher, 1941 ; Zielinska, 1952 ; Powning, 1953).

Les *Bombycoïdea* nous offrent des résultats variés. Chez certains, les excreta contiennent de l'acide urique, à l'exclusion de tout uréide (*Saturnia pavonia*). Chez d'autres, on y trouve à la fois de l'acide urique, de l'allantoïne et de l'acide allantoïque ; et si l'acide urique reste le plus abondant chez quelques-uns d'entre eux (*Cosmotriche, Pœcilocampa, Gastropacha, Macrothylacea, Malacosoma*), il n'en est plus de même chez *Lasiocampa trifolii* et *Lasiocampa quercus*, surtout avec certains régimes alimentaires. On notera à ce point de vue que la teneur des excreta des chenilles de *L. trifolii* diffère assez peu quand elles sont nourries au moyen d'*Hordeum*, de *Prunus* ou de *Rubus*, et cette teneur montre une prédominance de l'acide allantoïque. Par contre, l'acide urique est le plus abondant si on nourrit ces mêmes chenilles de feuilles de *Betulus*. En ce qui concerne *Lasiocampa quercus*, l'élimination d'uréides est importante si on utilise comme nourriture *Sarothamnus* ou *Alnus* ; elle l'est beaucoup moins lorsque ces chenilles consomment de la Ronce.

Les *Noctuoïdea* fournissent des résultats un peu semblables. Certaines chenilles n'éliminent guère que de l'acide urique, accompagné de petites quantités d'uréides (*Stilpnotia salicis, Conistra vaccinii, Orgyia gonostigma, Euproctis phaeorrhaea, Agrotis polygona, Agrotis ypsilon*).

Chez d'autres, la teneur en uréides est assez importante (*Arctia caja, Tyria jacobaeae, Euxoa segetum, Miselia pisi, Amathes lychnidis, Trigonophora, Phytometra gamma*). Enfin les uréides sont prédominants chez quelques-unes (chenilles de *Agrotis comes, Agrotis pronuba, Mammestra brassicae*).

Nous remarquons que la chenille de *Miselia pisi* alimentée avec *Sarothamnus* élimine davantage de produits puriques que lorsqu'elle consomme de la Fougère *Pteris aquilina*. Les chenilles de *Trigonophora* élevées sur *Senecio vulgaris* éliminent un peu d'acide allantoïque ; elles n'en excrètent que des traces si elles consomment du Chrysanthème, et pas du tout si elles mangent du Glaïeul.

C'est dans les excreta des chenilles de *Papilionoidea* que nous avons trouvé les teneurs les plus importantes en uréides glyoxyliques. Certes on en trouve encore assez peu chez *Gonepteryx rhamni, Vanessa c-album* et *Vanessa atalanta* qui éliminent surtout de l'acide urique. Mais chez les autres espèces étudiées, *Pieris brassicae, Pieris rapae, Vanessa io, Aglais urticae, Melithaea didyma*, c'est l'acide allantoïque qui prédomine. On y trouve aussi un peu d'acide urique et de petites quantités d'allantoïne. Tout cela

concorde avec nos observations précédentes, lors desquelles nous avons mis en évidence chez ces chenilles une uricase et une allantoïnase actives.

Nous avons vérifié si les uréides recherchés ne préexistent pas dans les végétaux consommés par nos chenilles. Nous en avons décelé de petites quantités dans le Chou (*Brassicae oleracea*), et des traces dans le Radis. Nous n'en avons pas trouvé dans les autres plantes utilisées.

On peut admettre que le bilan des produits d'origine purique ainsi éliminés est caractéristique des propriétés des chenilles des Lépidoptères étudiées. On trouvera confirmation à cette conclusion en remarquant qu'à une même nourriture peuvent correspondre selon les espèces des bilans très différents. Nous avons déjà effectué semblable observation à propos des larves des Hyménoptères Symphytes. Notons ici qu'avec l'ortie *Urtica dioïca* ont été nourries les chenilles des Papilionidea *Vanessa atalanta, Vanessa io, Aglais urticae,* et celles de la Noctuelle *Phytometra gamma.* Dans deux cas, l'acide urique est le plus abondant ; dans les deux autres, c'est l'acide allantoïque.

Nous avons vu précédemment que de nombreuses larves de Symphytes consomment des feuilles d'Aulne. C'est aussi le cas de quelques chenilles. Ainsi alimentées, celles de *Lasiocampa quercus* éliminent surtout de l'acide allantoïque, celles d'*Acronycta rumicis* en éliminent aussi, mais beaucoup moins ; par contre on n'en trouve nulle trace dans les excreta de celle de la Géomètre *Cabera pusaria,* qui élimine de l'acide urique en quantité relativement abondante. Rappelons que l'Aulne est aussi la nourriture du Coléoptère *Haplogastra Agelastica alni* qui n'excrète aucun uréide.

Alimentées avec des feuilles de Radis, les chenilles de *Pionea forficalis* et de *Euxoa segetum* éliminent beaucoup d'acide urique et de petites quantités d'uréides. Nous suivrons ultérieurement pendant une partie de leur cycle larvaire d'autres chenilles qui ont reçu cette même plante en nourriture, et nous verrons qu'elles éliminent des quantités plus importantes d'acide allantoïque.

On doit admettre que la plupart des chenilles sont à la fois uricotéliques et uricolytiques, éliminant à la fois de l'acide urique et des substances provenant de la dégradation enzymatique de ce même acide urique. Chez certaines d'entre elles, l'uricolyse devient très importante, et même prédominante, la quantité de substances d'origine purique éliminées sous forme d'uréides glyoxyliques arrivant à dépasser de beaucoup celle qui est restée à l'état d'acide urique.

(2) Méconium

| | Teneur % du poids sec en Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque |
|---|---|---|---|
| **Sous-ordre des Monotrysia** | | | |
| **Super-famille des Hépialoidea** | | | |
| *Hepialus sp.* ..... | 49,2 | 0,60 | 0,00 |
| **Sous-ordre des Ditrysia** | | | |
| **Super-famille des Cossoidea** | | | |
| *Cossus cossus* L. ..... | 49,5 | | 0,00 |
| **Super-famille des Psychoidea** | | | |
| *Zygaena trifolii* Esp. ..... | 32,9 | 0,22 | 0,15 |
| **Super-famille des Bombycoïdea** | | | |
| *Saturnia pavonia* L. ..... | 42,7 | 0,41 | 0,13 |
| *Saturnia atlantica* Luc. .... | 55,0 | 0,36 | 0,00 |
| *Lasiocampa quercus* L. .. | 8,4 | | 0,00 |
| **Super-famille des Papilionoidea** | | | |
| *Pieris brassicae* L. ..... | 32,9 | 0,89 | 1,50 |
| *Pieris rapae* L. ..... | 23,1 | | 5,10 |
| *Gonepteryx rhamni* L. .... | 23,5 | | 4,40 |
| *Vanessa atalanta* L. ..... | 16,8 | 2,30 | 4,90 |
| *Vanessa c-album* L. ..... | 11,5 | | 6,77 |
| *Vanessa cardui* L. ..... | 15,3 | | 19,3 |
| *Vanessa antiopa* L. ..... | 5,00 | 0,00 | 14,5 |
| *Vanessa io* L. ..... | 44,2 | 0,17 | 5,40 |
| *Aglais urticae* L. ..... | 15,4 | 4,50 | 6,60 |
| *Araschnia levana* L. ..... | 37,8 | 1,61 | 2,10 |
| **Super-famille des Geometroïdea** | | | |
| *Cabera pusaria* L. ..... | 35,0 | | 0,00 |
| *Chaesias spartiata* Fuessl. .. | 20,4 | | 0,00 |
| **Super-famille des Sphingoidea** | | | |
| *Hyloicus ligustri* L. ..... | 27,6 | 0,33 | 0,00 |
| *Mimas tiliae* L. ..... | 35,0 | 1,16 | 0,00 |
| *Amorpha populi* L. ..... | 42,8 | 0,85 | 0,00 |

| Super-famille des Noctuoidea | Teneur % du poids sec en Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque |
|---|---|---|---|
| *Arctia villica* L. ..... | 45.6 | 0,69 | 1,17 |
| *Tyria jacobaeae* L. ..... | 28,7 | | 0,00 |
| *Euxoa segetum* Schiff. .... | 35,6 | | 0,88 |
| *Agrotis comes* Tr. ..... | 51,0 | | 0,58 |
| *Mammestra brassicae* L. .. | 24,0 | | 0,69 |
| *Conistra vaccinii* L. ..... | 41,6 | 1,51 | 1,50 |
| *Trigonophora meticulosa* L. | 51,8 | | 9,60 |
| *Acronycta rumicis* L. .... | 17,0 | 0,16 | 0,05 |
| *Catocala promissa* Esp. .. | 51,6 | | 6,20 |
| *Phytometra gamma* L. .... | 31,0 | | 0,00 |
| *Stilpnotia salicis* L. ..... | 20,8 | | 0,78 |

La nymphe des Lépidoptères ne prenant aucune nourriture, le méconium ne contient que les déchets du métabolisme, déchets accumulés pendant toute la vie nymphale. Ce méconium contient toujours des quantités importantes d'acide urique. Ce fait avait déjà été signalé par Courtois-Drilhon (1931) à propos des espèces *Attacus pernyi*, *Saturnia pyri*, *Hyloicus ligustri*, par Heller et Aremowna (1932), chez *Deilephila euphorbiae*, et par Wieland, Metzger, Schopf, Bulow (1933), chez diverses Piérides. Nous avons trouvé que la teneur en tri-oxypurine est rarement inférieure à 20 % ; elle atteint et dépasse même 50 % chez certaines espèces.

Par contre la proportion d'uréides est le plus souvent peu importante. On peut trouver de petites quantités d'allantoïne ; on ne saurait affirmer que cet uréide se forme dans tous les cas grâce à une action uricasique... Peut-être est-il parfois le résultat de processus synthétiques, à partir d'acides aminés... On observe en effet la présence de traces de ce composé dans le méconium des Géomètres, qui nous ont semblé dépourvues d'uricase. Cette teneur en allantoïne n'a d'ailleurs été calculée que dans quelques cas ; elle semble généralement peu élevée ; elle atteint néanmoins 4,5 % chez *Aglais*.

Bon nombre de méconium contient aussi de l'acide allantoïque. Ainsi on en trouve des traces chez ceux de *Zygaena trifolii*, de *Saturnia pavonia*. Dans le méconium des *Noctuidea*, cet uréide est généralement présent dans une proportion qui ne dépasse guère le plus souvent 1 % (*Arctia villica*, *Euxoa*, *Agrotis comes*, *Mammestra*, *Conistra*, *Stilpnotia salicis*). Néanmoins cette teneur en acide allantoïque atteint dans quelques cas des valeurs plus importantes : elle est de 6 % dans le méconium de *Catocala promissa*, et de 9,6 % dans celui de *Trigonophora*.

C'est chez les *Papilionoidea* que le méconium contient le plus d'uréides. On y trouve une proportion d'acide allantoïque allant jusqu'à 19 %. Dans certains des cas rapportés ci-dessus, la propor-

tion d'uréides l'emporte sur celle d'acide urique. Notons toutefois que dans ce tableau nous n'avons rapporté pour chaque espèce qu'une seule analyse. Les mêmes expériences reprises avec du matériel de même provenance, ont parfois donné des résultats notablement différents. Ainsi nous devons signaler que les teneurs suivantes en acide allantoïque ont aussi été obtenues :

| | | Autres teneurs % en acide allantoïque dans : | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Méconium de : | *Aglais urticae* .... | 10,5 | 7,30 | 22,5 | 12,3 | 13,4 | 9,60 |
| » | *Vanessa atalanta*.. | 5,00 | | | | | |
| » | *Vanessa io* ..... | 12,6 | | | | | |
| » | *Pieris brassicae* .. | 3,90 | | | | | |

Ce sont là des variations individuelles importantes. La teneur en acide urique peut elle-même varier, souvent d'ailleurs en sens inverse de l'acide allantoïque.

Nous rappellerons en passant la coloration rouge-sang du méconium de certains *Papilionoidea*. Meyer (1930) a étudié le pigment responsable de cette coloration. Ce pigment se forme dès la vie larvaire, il est alors éliminé par les tubes de Malpighi ; nous avons nous-même remarqué que les derniers excreta émis par les nilles de *Pieris brassicae* sont parfois totalement rouges. Cette substance est encore élaborée pendant la métamorphose, et colore fortement le méconium, en particulier chez les Vanesses. Meyer considère que ce pigment est un dérivé de l'acide urique.

On doit admettre qu'une réelle uricolyse s'effectue chez de nombreux Lépidoptères pendant la nymphose. La recherche des enzymes uricolytiques avait d'ailleurs fourni chez ces espèces des résultats positifs. On peut être toutefois étonné que dans de nombreux cas, il se trouve toujours autant d'acide urique. A notre avis, tout se passe comme si dans la nymphe on assistait à l'action d'une dose limitée d'uricase sur une quantité très importante d'acide urique, et l'enzyme n'y est pas nécessairement en contact avec l'acide urique. Si de plus on admet que la concentration en uricase est elle-même susceptible de varier d'un exemplaire à l'autre, on s'expliquera aisément les variations constatées dans la teneur du méconium de quelques espèces.

(3) Excreta des imagos

| | Teneur % du poids sec en | | |
|---|---|---|---|
| | Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque |
| **Super-famille des Papilionoidea** | | | |
| *Pieris brassicae* L. ..... | 20,0 | 0,74 | 0,18 |
| *Pieris rapae* L. ..... | 23,6 | 0,48 | 0,00 |
| *Vanessa atalanta* L. ..... | 5,00 | 0,77 | 5,60 |
| *Aglais urticae* L. ..... | 24,0 | 0,00 | 1,40 |

| Super-famille des Noctuoidea | Teneur % des excreta secs en Acide urique | Allantoïne | Acide allantoïque |
|---|---|---|---|
| *Euxoa segetum* Schiff. .... | 11,7 | | 0,00 |
| *Agrotis comes* Tr. ..... | 38,0 | | 0,26 |
| *Lycophotia saucia* Hb. .... | 0,38 | | 0,42 |
| *Mammestra brassicae* L. .. | 18,1 | | 0,00 |
| *Monima incerta* Hufn. .... | 6,80 | | 0,60 |
| *Conistra vaccinii* L. ..... | 0,50 | | 4,30 |
| *Amathes circellaris* Hfn. .. | 0,70 | | 0,80 |
| *Amathes lychnidis* Schiff.. | 2,60 | | 3,80 |
| *Amathes macilenta* Hb. .... | 0,60 | | 0,95 |
| *Trigonophora meticulosa* L. | 7,70 | 0,09 | 0,38 |

Nous avons pu analyser les excreta de quelques *Papilionoidea* et de quelques *Noctuoidea*.

Dans l'un et l'autre de ces groupes, nous trouvons des espèces qui éliminent des excreta riches en acide urique et pauvres en uréides (*Pieris, Aglais, Euxoa, Agrotis, Mammestra, Monima, Trigonophora*). Les autres, par contre, excrètent relativement peu d'acide urique, mais davantage d'uréides (*Vanessa atalanta, Lycophotia, Amathes, Conistra*).

On constate ainsi que l'uricolyse est effective chez un bon nombre de Lépidoptères adultes. Cette uricolyse est toujours partielle, mais dans certains cas elle affecte la plus grande partie des substances d'origine purique.

***

Si pour une espèce donnée, nous comparons les résultats obtenus aux divers stades, nous remarquons des variations. Le plus souvent, le méconium et les excreta des imagos contiennent proportionnellement plus d'acide urique et moins d'uréides que les excreta des chenilles. Mais on note parfois le contraire. C'est ainsi que les méconium de *Saturnia pavonia*, de *Catocala promissa* et *Stilpnotia salicis* contiennent des uréides, alors qu'on n'en trouve pas dans les excreta des chenilles des mêmes. *Vanessa atalanta* élimine proportionnellement plus d'acide allantoïque que d'acide urique au stade imaginal, alors qu'aux autres stades, c'est le contraire.

Des variations peuvent aussi être constatées dans les résultats fournis par divers individus d'une même espèce, examinés au même stade dans les mêmes conditions... Nous avons vu cela à propos du méconium. De telles variations individuelles peuvent aussi être observées dans l'analyse des excreta des chenilles ou des imagos. Elles sont toutefois beaucoup plus limitées. Nous n'avons pas la possibilité de nous étendre actuellement sur ce fait, que nous signalons pour mémoire.

### b) Excreta des chenilles analysés en fonction du développement

La teneur en acide urique et en uréides des excreta peut aussi varier en fonction du développement. C'est au stade larvaire que de telles observations sont susceptibles d'être effectuées. C'est pourquoi nous avons évalué cette teneur en acide urique et en uréides chez certaines chenilles, pendant la totalité ou seulement la dernière partie de leur vie larvaire.

Toutefois, nous devons signaler qu'une telle évaluation se complique chez quelques espèces par l'élimination, à certaines périodes, de quantités importantes d'eau, qui diluent les excreta, et peuvent entraîner certaines des substances recherchées. Nous avons observé ce phénomène de façon importante chez les chenilles de *Pieris brassicae*, vers le milieu de leur dernier stade larvaire. Les excreta frais peuvent alors contenir jusqu'à 83 % de leur poids d'eau. Nous interprétons ce fait comme la nécessité pour l'organisme de la chenille de concentrer son milieu intérieur en vue de la nymphose. Cette élimination de l'eau excédentaire ne s'observe ainsi que pendant ce dernier stade larvaire. Le même phénomène s'observe chez la Noctuelle *Euxoa segetum*. Par contre chez d'autres espèces de Lépidoptères cette élimination d'eau n'a lieu qu'au moment même de la mue nymphale.

Dans les cas signalés ci-dessus (chenilles de *Pieris brassicae*, d'*Euxoa segetum*), nous avons cherché à recueillir sur papier filtre l'excès de liquide ainsi émis, l'avons séché et analysé comme lors de l'étude des excreta liquides, et avons tenu compte des chiffres ainsi obtenus.

Les résultats de ces séries d'analyses sont rassemblés dans les divers tableaux ci-après :

(1) Chenilles de **Pieris rapae** L.

Chenilles au dernier stade, nourries de feuilles de Radis (Octobre).

| Excreta recueillis | Teneur % du poids sec en Acide urique | Acide allantoïque |
|---|---|---|
| 1 jour après la mue | 2,80 | 2,90 |
| 3 » | 2,40 | 1,80 |
| 5 » | 1,50 | 1,60 |
| 7 » | 2,70 | 2,70 |
| 9 » | 3,30 | 5,60 |
| Nymphose. | | |

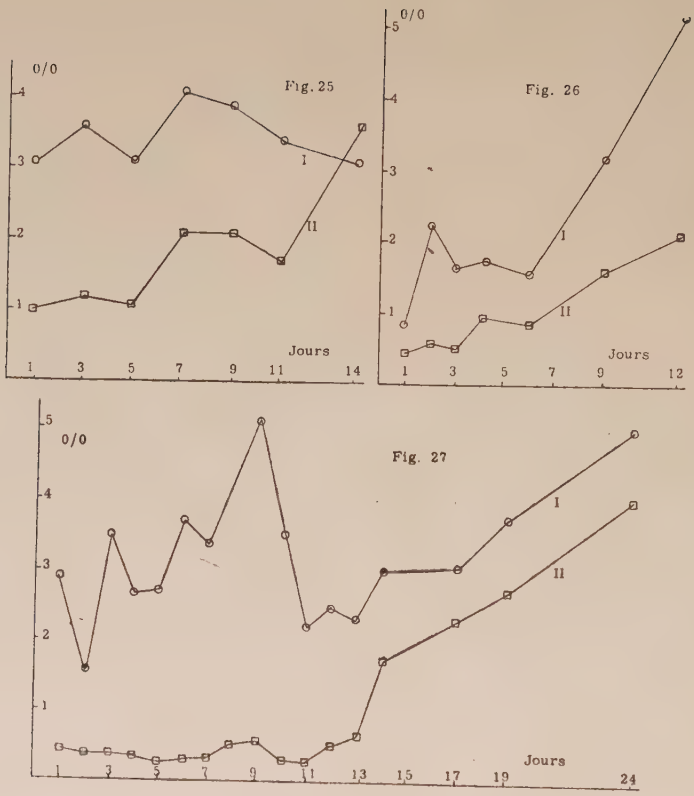



FIG. 25-26-27. — Teneur en acide allantoïque (I) et en acide urique (II), des excreta de chenilles de *Pieris brassicae*, élevées sur radis en octobre (fig. 25), élevées sur choux en octobre (fig. 26), élevées sur radis en mars-avril (fig. 27).

(2) Chenilles de **Pieris brassicae** L. (Fig. 25, 26, 27)

Chenilles au dernier stade, nourries de feuilles de Radis (Octobre).

| Excreta recueillis | Teneur % du poids sec en Acide urique | Acide allantoïque |
|---|---|---|
| 1 jour après la mue | 1,00 | 3,10 |
| 3 » | 1,20 | 3,60 |
| 5 » | 1,10 | 3,10 |
| 7 » | 2,10 | 3,10 |
| 9 » | 2,10 | 3,80 |
| 11 » | 1,70 | 3,40 |
| 14 » | 3,60 | 3,10 |
| Nymphose. | | |

Chenilles au dernier stade, nourries de Choux (Octobre).

| Excreta recueillis | Teneur % du poids sec en Acide urique | Acide allantoïque |
|---|---|---|
| 1 jour après la mue | 0,61 | 2,26 |
| 2 » | 0,57 | 1,66 |
| 3 » | 0,95 | 1,76 |
| 5 » | 0,85 | 1,57 |
| 8 » | 1,60 | 3,17 |
| 10 » | 2,10 | 5,45 |
| Nymphose. | | |

Chenilles au dernier stade, nourries de feuilles de Radis (Mars, Avril).

| Excreta recueillis | Teneur % du poids sec en Acide urique | Acide allantoïque |
|---|---|---|
| 1 jour après la mue | 0,49 | 2,90 |
| 2 » | 0,46 | 1,60 |
| 3 » | 0,45 | 3,50 |
| 4 » | 0,37 | 2,66 |
| 5 » | 0,27 | 2,71 |
| 6 » | 0,33 | 3,76 |
| 7 » | 0,37 | 3,36 |
| 8 » | 0,58 | 4,25 |
| 9 » | 0,60 | 5,07 |
| 10 » | 0,32 | 3,50 |
| 11 » | 0,29 | 2,20 |
| 12 » | 0,57 | 2,47 |
| 13 » | 0,70 | 2,37 |
| 14 » | 1,74 | 3,00 |
| 17 » | 2,29 | 3,02 |
| 19 » | 2,69 | 3,74 |
| 24 » | 4,10 | 5,10 |
| Nymphose. | | |

Chenilles nourries de feuilles de Radis, atteintes de flacherie (Mai-Juin) (Fig. 28).

| Excreta recueillis | Stades larvaires | Teneur % du poids sec en Acide urique | Acide allantoïque |
|---|---|---|---|
| 6 jours après l'éclosion | $L_1$ | 2,10 | 3,38 |
| 8 » | $L_2$ | 1,80 | 1,10 |
| 10 » | $L_3$ | 1,28 | 1,32 |
| 12 » | $L_3$ | 2,14 | 1,87 |
| 14 » | $L_4$ | 1,59 | 0,97 |
| 16 » | » | 1,57 | 0,68 |
| 18 » | » | 1,85 | 2,95 |
| 20 » | » | 1,51 | 2,51 |
| 22 » | » | 0,83 | 0,70 |
| 24 » | $L_5$ | 1,17 | 1,45 |
| 26 » | » | 0,75 | 0,90 |
| 28 » | » | 1,07 | 2,74 |
| 30 » | » | 1,35 | 1,51 |
| 32 » | » | 1,92 | 0,77 |
| 36 » | » | 1,14 | 0,41 |

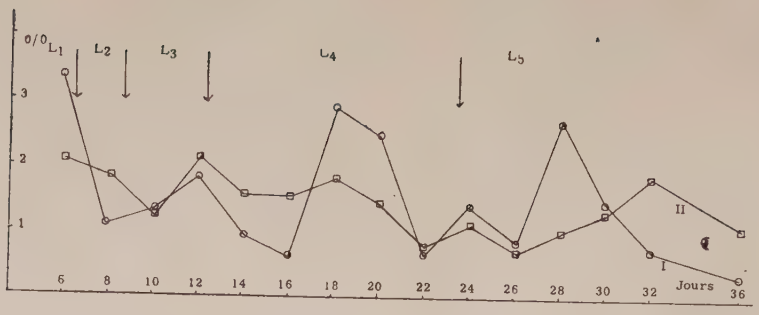



FIG. 28. — Teneur en acide allantoïque (I) et en acide urique (II) des excreta de chenilles de *Pieris brassicae*, atteintes de flacherie. ($L_1$ à $L_5$ : stades larvaires ; les flèches indiquent les mues).

(3) Chenilles d'**Aglais urticae** L.

Chenilles nourries de feuilles d'*Urtica dioïca* (Juin). (Fig. 29).

| Excreta recueillis | Stades larvaires | Teneur % du poids sec en Acide urique | Allantoïne | Acide allantoïque |
|---|---|---|---|---|
| 4 jours après l'éclosion | $L_1$ | 0,48 | | 0,83 |
| 7 » | $L_2$ | 0,72 | 0,06 | 1,08 |
| 10 » | $L_3$ | 1,40 | 0,05 | 1,06 |
| 12 » | » | 0,45 | 0,08 | 0,45 |
| 13 » | $L_4$ | 0,34 | 0,06 | 0,45 |
| 14 » | » | 0,72 | 0,19 | 0,95 |
| 15 » | » | 0,55 | 0,26 | 1,90 |
| 16 » | $L_4$ | 0,52 | 0,45 | 1,60 |
| 17 » | $L_5$ | 0,51 | 0,55 | 1,25 |
| 18 » | » | 0,45 | 0,20 | 1,80 |
| 19 » | » | 0,70 | 0,29 | 2,40 |
| 20 » | » | 1,90 | 0,62 | 3,40 |
| Nymphose. | | | | |

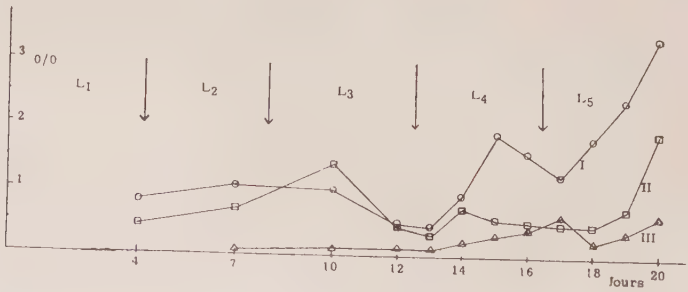


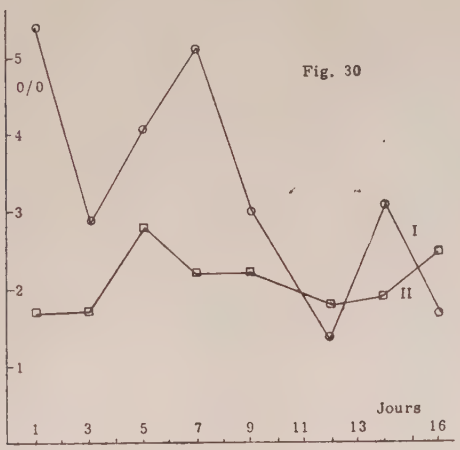

FIG. 29. — Teneur en acide allantoïque (I), en acide urique (II), et en allantoïne (III), des excreta de chenilles d'*Aglais urticae*. ($L_1$ à $L_5$ : stades larvaires ; les flèches indiquent les mues).

(4) Chenilles de **Mammestra brassicae** L.

Chenilles au dernier stade, nourries de feuilles de Radis (Octobre) (Fig. 30).

| Excreta recueillis | Teneur % du poids sec en Acide urique | Acide allantoïque |
|---|---|---|
| 1 jour après la mue | 1,70 | 5,40 |
| 4 » | 1,70 | 2,90 |
| 5 » | 2,80 | 4,10 |
| 7 » | 2,30 | 5,10 |
| 9 » | 2,30 | 3,00 |
| 12 » | 1,80 | 1,30 |
| 14 » | 1,90 | 3,20 |
| 16 » | 2,50 | 1,70 |

Nymphose.



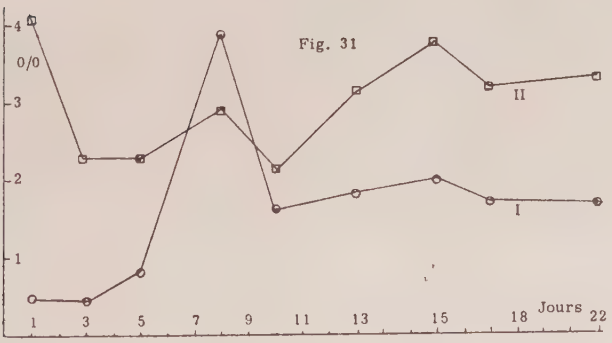




Fig. 30-31. — Teneur en acide allantoïque (I) et en acide urique (II) des excreta de chenilles de *Mammestra brassicae* (fig. 30) et d'*Agrotis pronuba* (fig. 31) au dernier stade.

(5) Chenilles d'**Agrotis pronula** L.

Chenilles au dernier stade, nourries de feuilles de Radis (Octobre-Novembre). (Fig. 31).

| Excreta recueillis | Teneur % du poids sec en Acide urique | Acide allantoïque |
|---|---|---|
| 2 jours après la mue | 4,10 | 0,51 |
| 4 » | 2,30 | 0,44 |
| 6 » | 2,30 | 0,81 |
| 9 » | 2,90 | 3,90 |
| 11 » | 2,20 | 1,60 |
| 14 » | 3,30 | 1,80 |
| 17 » | 3,80 | 2,50 |
| 19 » | 3,20 | 2,20 |
| 24 » | 3,30 | 2,20 |
| Nymphose. | | |

(6) Chenilles d'**Agrotis ypsilon** Rott.

Chenilles au dernier stade, nourries de Séneçon (Février-Mars).

| Excreta recueillis | Teneur % du poids sec en Acide urique | Acide allantoïque |
|---|---|---|
| 1 jour après la dernière mue | 2,80 | 0,12 |
| 2 » | 2,20 | 0,20 |
| 3 » | 5,20 | 0,31 |
| 5 » | 3,30 | 0,28 |
| 6 » | 2,30 | 0,37 |
| 7 » | 3,90 | 0,51 |
| 10 » | 7,60 | 0,57 |
| 13 » | 6,00 | 0,26 |
| 16 » | 7,40 | 0,28 |
| Nymphose. | | |

(7) Chenilles d'**Euxoa segetum** Sc.

Chenilles aux 2 derniers stades, nourries de Séneçon (Mars-Avril). (Fig. 32).

| Excreta recueillis | Teneur % du poids sec en Acide urique | Acide allantoïque |
|---|---|---|
| 1 jour après la mue $L_4$-$L_5$ | 0,65 | 0,20 |
| 2 » » | 0,63 | 0,35 |
| 3 » » | 1,10 | 0,73 |
| 4 » » | 2,30 | 0,85 |
| 5 » » | 3,19 | 1,26 |
| 6 » » | 2,97 | 1,67 |
| 7 » » | 3,90 | 1,30 |
| 8 » » | 2,64 | 0,49 |
| 10 » » | 4,81 | 0,82 |
| 11 » » | 3,90 | 0,58 |
| Mue $L_5$-$L_6$ | | |

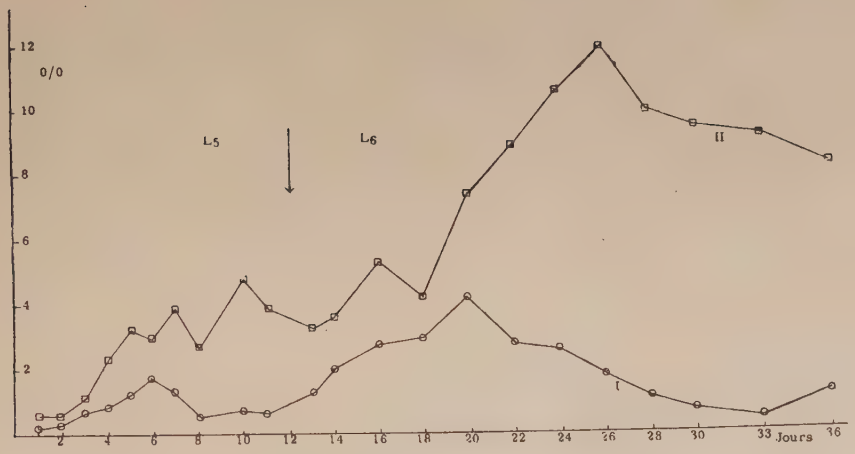



FIG. 32. — Teneur en acide allantoïque (I) et en acide urique (II), des excreta de chenilles d'*Euxoa segetum*, aux deux stades larvaires $L_5$ et $L_6$.

| Excreta recueillis | | | Teneur % du poids sec en Acide urique | Acide allantoïque |
|---|---|---|---|---|
| 13 | » | » | 3,26 | 1,30 |
| 14 | » | » | 4,06 | 2,50 |
| 16 | » | » | 5,30 | 2,84 |
| 18 | » | » | 4,20 | 2,92 |
| 20 | » | » | 7,40 | 3,21 |
| 22 | » | » | 8,80 | 2,75 |
| 24 | » | » | 10,5 | 2,57 |
| 26 | » | » | 11,9 | 1,81 |
| 28 | » | » | 9,90 | 1,09 |
| 30 | » | » | 9,50 | 0,72 |
| 33 | » | » | 9,20 | 0,49 |
| 36 | » | » | 8,30 | 1,11 |
| Nymphose. | | | | |

(8) Chenilles de **Lasiocampa quercus** L.

Chenilles nourries de *Sarothamnus scoparius*.

| Excreta recueillis en | Teneur % du poids sec en Acide urique | Allantoïne | Acide allantoïque |
|---|---|---|---|
| Novembre | 0,00 | | 1,10 |
| Décembre | 0,00 | | 1,88 |
| Janvier | 0,00 | 0,57 | 2,80 |
| Février | 0,00 | 0,00 | 1,15 |
| Mars | 0,12 | 0,04 | 2,64 |
| Avril | 0,00 | 0,10 | 2,10 |
| Mai | 0,00 | 0,53 | 2,27 |
| Juin | 0,23 | 0,73 | 2,33 |
| Nymphose. | | | |

**Chenilles nourries de *Rubus sp.***

| Excreta recueillis en | Teneur % du poids sec en Acide urique | Allantoïne | Acide allantoïque |
|---|---|---|---|
| Décembre | 0,71 | 0,00 | 0,39 |
| Janvier | 0,90 | 0,07 | 0,11 |
| Février | 0,38 | 0,00 | 0,18 |
| Mars | 0,19 | 0,00 | 0,25 |
| Avril | 0,44 | 0,11 | 0,25 |
| Mai | 0,35 | 0,09 | 0,06 |
| Nymphose. | | | |

Ces divers résultats, ainsi que les courbes correspondantes (fig. 25 à 32), nous procurent les renseignements ci-après.

— En ce qui concerne les *Papilionoidea* étudiés (*Pieris rapae, Pieris brassicae, Aglais urticae*), nous remarquons une augmentation à peu près générale de la quantité totale excrétée de produits d'origine purique, immédiatement avant la nymphose. Tout se passe comme si l'organisme avait alors besoin de se débarrasser au maximum des déchets de son métabolisme, déchets qui avaient été incomplètement éliminés au cours de la vie larvaire.

Nous remarquons que la durée du dernier stade est plus longue en mars-avril (23 jours) qu'en juin ou en octobre. Nos sujets étant élevés dans une pièce non chauffée, cette variation provient de la différence de température. C'est d'ailleurs là un phénomène connu.

Pendant les stades de croissance de la larve, stades 3 et 4 en particulier, la teneur en acide urique et acide allantoïque passe généralement par un maximum, vers le milieu de l'intermue. La teneur en allantoïne est toujours très faible.

Le cas des chenilles atteintes de flacherie doit être étudié à part. Vers le milieu des stades larvaires, on assiste au maximum signalé ci-dessus. Mais contrairement à ce qui se passe chez les chenilles non malades, on retrouve un maximum semblable pendant le dernier stade, le stade pré-nymphal. Tout se passe comme si, sous l'influence de la maladie, les chenilles avaient gardé alors un métabolisme analogue à celui des stades de croissance, et n'avaient donc pas acquis les propriétés qui caractérisent normalement ce métabolisme avant la nymphose. Tout en permettant aux chenilles de se transformer morphologiquement, de muer, l'infection aurait stoppé leur évolution métabolique. Ces sujets sont d'ailleurs morts à l'époque où ils auraient dû se nymphoser.

— Généralement, on n'assiste pas, chez les *Noctuoidea* étudiés, à la même augmentation de la teneur en produits d'origine purique immédiatement avant la nymphose. Il semble qu'on retrouve chez eux, à chaque stade, y compris le dernier, un maximum plus ou moins marqué peu après la mue, et un palier ou une légère diminution lors de la mue.

— Les chenilles du *Bombycoïdea Lasiocampa quercus* ont un métabolisme qui varie selon leur alimentation. Nourries avec le genêt à balai *Sarothamnus scoparius*, elles éliminent lors de la nymphose des excreta beaucoup plus riches. Par contre, alimentées avec de la Ronce, le bilan, plus important au début de l'hiver, diminue ensuite.

## DISCUSSION ET CONCLUSION

Les observations rapportées dans ce chapitre apportent une preuve nouvelle et indiscutable de la présence de l'uricolyse chez de nombreux Insectes. Cette uricolyse se manifeste certes par l'action, chez le sujet considéré, des enzymes responsables (uricase et éventuellement allantoïnase) avec production des catabolites correspondants (allantoïne, acide allantoïque) ; elle aboutit en définitive à l'élimination au dehors de ces catabolites, et c'est là un point particulièrement important.

Divers Insectes, ne possédant que l'uricase, élaborent de l'allantoïne, qui est retrouvée dans les excreta ; c'est en particulier le cas de la plus grande partie des Hétéroptères, de quelques Diptères Brachycères ; il semble qu'il en soit de même chez le Coléoptère Buprestide *Chrysobothris affinis*. Tous ces Insectes doivent être considérés comme allantoïnotéliques.

Beaucoup d'autres espèces, parmi lesquelles quelques Polynéoptères et de nombreux Oligonéoptères, pourvus à la fois d'uricase et d'allantoïnase, produisent de l'acide allantoïque, qu'ils éliminent. C'est là un phénomène que nous avons observé chez les Diptères du genre *Tipula*, et surtout chez de très nombreux Lépidoptères : il existe en effet des quantités importantes d'acide allantoïque dans les excreta émis par beaucoup de Papillons, qu'ils soient à l'état de chenilles, de chrysalides ou d'imagos. Le caractère allantoïcotélique de ces Insectes ne saurait plus être mis en doute.

Toutefois, cette uricolyse n'est généralement que partielle : une partie de l'acide urique échappe à l'action de l'uricase, et se retrouve dans les excreta en même temps que les catabolites plus dégradés.

La nature ou la proportion des catabolites émis dans les excreta peut varier selon la nourriture ingérée. Mis à part le cas où ces catabolites sont déjà présents dans cette nourriture, il semble que les variations observées peuvent être expliquées en se souvenant que la présence dans les excreta de certaines substances suppose que certains éléments soient apportés à l'organisme par l'alimentation. A partir de ces éléments, l'organisme élabore, ou n'élabore pas, certains catabolites, selon qu'il possède, ou ne possède pas, les biocatalyseurs nécessaires à cette élaboration.

## CONCLUSION GÉNÉRALE SUR L'ACIDE URIQUE ET SES CATABOLITES

Florkin et Duchateau (1943) considèrent que l'analyse des excreta d'une espèce donnée est en général susceptible de n'apporter que peu de renseignements sur son catabolisme purique, car ils estiment que les produits d'excrétion du catabolisme protidique sont quantitativement beaucoup plus importants que ceux du catabolisme purique, et que ces derniers sont en quelque sorte noyés dans la masse des autres.

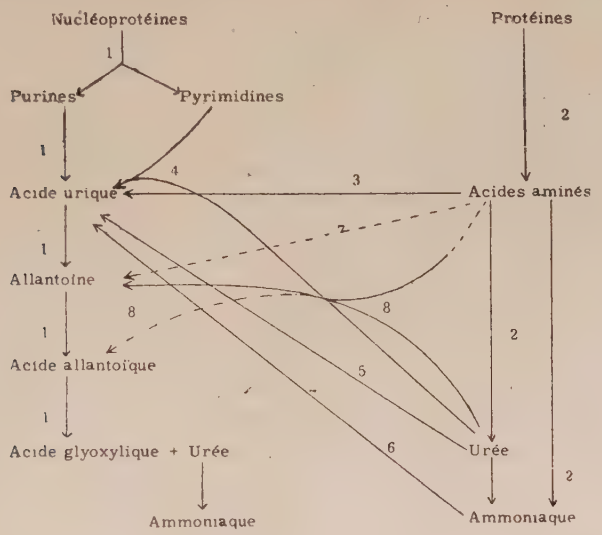
Le problème se présente différemment chez les Insectes. Chez ces animaux en effet on admet qu'en général tous les déchets azotés sont transformés en acide urique. En même temps que les nucléoprotéines sont dégradées progressivement et libèrent les bases puriques bientôt oxydées en acide urique, en même temps, à partir des déchets du catabolisme protidique, s'effectue un ensemble de processus synthétiques aboutissant à l'acide urique.

Divers auteurs ont essayé de comprendre le mécanisme de cette élaboration synthétique de la trioxypurine à partir de l'azote protidique.

Wiener (1902) considérait que cette synthèse s'effectue chez les animaux à partir d'urée et de diacides à 3 carbones ; Leifert (1935) affirme l'avoir obtenue selon ce schéma en présence d'extraits de larves et de nymphes du Lépidoptère *Antherea pernyi* ; cet auteur dit aussi avoir observé la formation d'acide urique grâce au même matériel, à partir d'urée et de pyrimidines. Purrman (1943), Timon-David (1947) considèrent que dans certaines conditions l'Insecte peut opérer la synthèse de l'acide urique à partir de pyrimidines. Florkin (1947) émet l'avis que chez les Insectes l'urée est un intermédiaire dans l'élaboration synthétique de l'acide urique, mais il estime que le processus se déroule selon un mode non élucidé, différent du schéma de Wiener.

Une telle synthèse à partir de l'urée n'est pas obtenue expérimentalement chez *Bombyx mori* (Brighenti et Colla, 1940) ; elle devient possible si l'urée est accompagnée d'uréase, ou en présence de sels ammoniacaux (Brighenti, 1941). Elle s'opère aussi en présence de formiate (Mac Enroe et Forgash, 1957-1958), en présence

d'oxalacétate d'éthyle (Anderson et Patton, 1955 ; Desay et Kilby, 1958) (par condensation avec des composés azotés non précisés). La synthèse de l'acide urique semble s'effectuer aussi à partir des acides aminés (Hoskins et Craig, 1935 ; Heller et Jezewska, 1959). Le tableau ci-contre rappelle l'ensemble de ces divers processus. S'y trouvent aussi mentionnées les synthèses d'allantoïne ou d'acide allantoïque à partir d'urée et d'acides




*Résumé des processus d'élaboration des principaux catabolites azotés*

1. Dégradation des nucléoprotéines, suivie de l'uricolyse.
2. Dégradation des protéines, avec ou sans passage par l'urée.
3. Synthèse d'acide urique à partir des acides aminés.
4. Synthèse d'acide urique à partir des pyrimidines et de l'urée.
5. Synthèse d'acide urique à partir de l'urée.
6. Synthèse d'acide urique à partir de l'ammoniaque.
7. Synthèse d'allantoïne à partir d'acides aminés (Ackroyd et Hopkins, 1916), Echevin, Brunel et Sartorius, 1940), connue chez les Mammifères, non encore observée chez les Insectes.
8. Synthèse à partir d'urée et de dérivés d'acides aminés et pouvant aboutir — soit à l'allantoïne (Eppinger, 1906), observée chez le Lépidoptère *Antherea* (Leifert) — soit à l'acide allantoïque, observée chez des Champignons (Brunel et Brunel-Capelle, 1951), non encore connue chez des Insectes.

*Nota.* — Nous n'avons pas porté sur ce tableau la formation d'acide urique à partir de formiate et d'oxalacétate d'éthyle, car nous ignorons les composés azotés qui rentrent dans ce mode de synthèse.

aminés ou de composés en provenant, auxquelles nous avons déjà fait allusion (1).

Cet acide urique, qu'il soit d'origine nucléoprotéidique ou d'origine protidique, est très souvent particulièrement abondant chez les Insectes et dans leurs excreta. Nous sommes d'accord avec tous les auteurs qui l'y ont signalé pour y reconnaître sa présence.

*Nous avons prouvé que l'acide urique est très souvent accompagné par d'autres catabolites* plus dégradés formés par suite de l'action des enzymes uricolytiques ; ces catabolites sont l'allantoïne et l'acide allantoïque, corps parfois plus abondants que l'acide urique lui-même. La règle de Przylecki (1925), d'après laquelle la formation synthétique de l'acide urique et sa dégradation enzymatique ne coexistent jamais dans le même organisme animal, ne s'applique pas à ces Insectes uricolytiques.

Afin de pouvoir affirmer avec une certitude totale la présence de ces deux uréides chez les Insectes et dans leurs excreta, nous les avons mis en évidence à la fois par leurs réactions caractéristiques habituelles, et grâce à la chromatographie sur papier ; et cette seconde méthode nous a permis de les retrouver dans tous les cas où nous avions déjà cru constater leur présence. C'est aussi grâce à la chromatographie sur papier que nous avons pu en particulier avoir une certitude sur la présence d'acide allantoïque chez les larves d'Hyménoptères Symphytes. Les techniques colorimétriques semblaient nous indiquer une teneur notable de cet uréide dans nos sujets et dans leurs excreta. Toutefois, la recherche de l'allantoïnase aboutissait à un résultat douteux. Nous en étions venu à nous demander si nous étions toujours en présence d'acide allantoïque. La chromatographie sur papier a levé le doute, car nous avons retrouvé le même Rf pour l'allantoate de référence et la substance apportée par nos Insectes (2).

Nous n'avons jamais fait mention de l'acide glyoxylique dans notre travail, n'ayant jamais observé la présence de ce corps, pas même chez les espèces pourvues d'allantoïcase. Il est signalé dans l'hémolymphe du Ver à soie (Manunta, 1949) ; divers japonais ont prouvé qu'il peut se former dans la glande séricigène de cette chenille à partir de la glycine par suite de phénomène de transaminations (cf. Bheemeswar, 1959 ; Gilmour, 1961).

La chromatographie sur papier nous a permis de mettre auss'

(1) La synthèse de substances puriques à partir de catabolites protidiques a été étudiée chez d'autres animaux et particulièrement chez les Oiseaux ; elle semble s'effectuer selon les mêmes processus que chez les Insectes (cf. de Clerq, 1960).

(2) Certaines larves d'Hyménoptères symphytes (*Diprion pini*) ou de Lépidoptères (chenilles de *Malacosoma*, *Thaumetopoea*, *Abraxas*) contiennent de l'acide allantoïque dans leurs tissus, mais ne semblent pas en éliminer dans leurs excreta. Ces sujets étant dépourvus d'allantoïcase, nous ignorons ce que devient cet uréide.

en évidence l'urée chez un certain nombre de nos sujets. C'est un catabolite très répandu chez les Insectes, mais, sauf exception, assez peu abondant. On la trouve dans les tissus de nombreuses espèces de tous les Ordres examinés, et dans leurs excreta. Nous avons vu qu'elle ne peut provenir du catabolisme de l'acide urique que chez les très rares espèces pourvues d'allantoïcase. Son origine est donc en général uniquement protidique. Le mécanisme de sa formation chez les Insectes n'est pas encore totalement élucidé ; on a certes trouvé chez diverses espèces les acides aminés arginine et ornithine, et même l'enzyme arginase ; mais la présence du cycle de l'uréogenèse, tel qu'il est défini chez les Mammifères par Krebs et Henseleit, y est discuté (Garcia et Coll., 1956, 1957, 1958 ; Levenbook, 1958). L'urée se formerait plutôt par la voie du glutamate (Bheemeswar).

Ces deux termes, acide glyoxylique et urée, doivent être considérés comme les deux termes les plus dégradés susceptibles d'être formés par uricolyse chez les Insectes. Leur formation, possible seulement chez quelques espèces, n'a d'ailleurs pas été prouvée directement. Par contre, de nombreux Insectes conduisent la dégradation de l'acide urique jusqu'à l'acide allantoïque, d'autres en restent à l'allantoïne. Il existe enfin de nombreuses espèces dépourvues de toute propriété uricolytique et n'éliminant que l'acide urique.

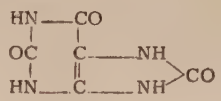
C'est à celles-là seules que doit être réservée l'expression de Florkin (1957) quand il écrit que « la plupart des Insectes ne poussent l'uricolyse que jusqu'au stade acide urique ».

Nous résumons dans le tableau ci-joint la répartition et les divers aspects de l'uricolyse chez les Insectes, du moins dans les principaux cas actuellement connus.

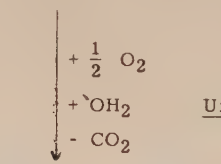
Certains Insectes éliminent aussi de l'ammoniaque. Nous avons vu qu'une telle élimination a été assez souvent signalée. Nous l'avons nous-même observée dans les excreta des chenilles des Lépidoptères *Pieris brassicae, Vanessa c-album, Gonepteryx rhamni.* L'ammoniaque est élaborée aussi par certaines larves aquatiques. Staddon (1955-195 ) l'a signalé chez la larve d'*Aeschna cyanea* (Odonate), et chez celle de *Sialis* (Mégaloptère). Nous avons nous-même effectué la même observation chez un certain nombre d'autres larves : chez celles d'*Ephemera vulgata* L. (Ephéméroptères), de *Anax sp., Somatochlora metallica* V. d. Lind., *Calopteryx splendens* Harr (Odonates), de *Dytiscus semisulcatus* Müll. (Coléoptère), de Diptères Nématocères des genres *Lasiodiamesa* et *Chironomus,* de *Glyphotaelius pellucidus* Retz et *Stenophylax rotundipennis* Brauer (Trichoptères). Nous avons encore observé cette production d'ammoniaque chez l'imago de l'Hétéroptère *Corixa punctata* Illig., mais non chez les espèces voisines (*Ranatra,*

Répartition de l'uricolyse chez les Insectes.

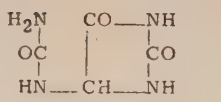
Thysanoures,
Paléoptères,
Polynéoptères,
Homoptères,
Coléoptères (pro parte)
Diptères, "
Lépidoptères, "
Hyménoptères "



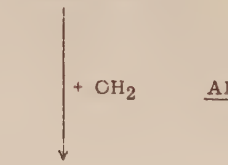
Acide urique



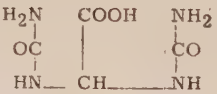

Hétéroptères
Diptères (pro parte) (1)
Coléoptères Buprestides (?)



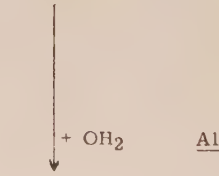
Allantoïne




Coléoptères : Heterogastra (pro parte) (2)
" Adephaga. "
Mégaloptères,
Plannipennes (pro parte)
Hyménoptères, (3)
Mécoptères,
Trichoptères (imagos)
Diptères Nématocères (pro parte) (4)
Lépidoptères : Bombycoïdea (pro parte)
Papilionidea "
Noctuidea "

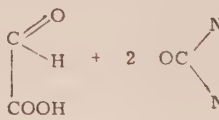


Acide allantoïque




Xenylla velchii

Acheta domestica



Acide glyoxylique + Urée

(1) Surtout Brachycères à larves créophages.
(2) Elatérides et Malacodermes.
(3) Symphytes et Cynipides, en partie.
(4) Surtout Tipulides et Bibionides.

*Notonecta glauca, Naucoris cimicoïdes*). L'ammoniaque éliminée s'accumule dans l'eau ambiante, où il est bientôt possible de la caractériser.

Quelques-unes seulement de ces espèces produisant de l'ammoniaque contiennent l'enzyme uréase. Chez les autres, l'ammoniaque semble se former par désamination directe des acides aminés. Dans tous les cas connus, l'absence de la totalité de la chaîne enzymatique de l'uricolyse nous oblige à considérer *l'ammo-*

*niaque ainsi produite chez les Insectes comme provenant uniquement du catabolisme protidique.* L'azote d'origine purique reste par contre soit sous forme d'acide urique (larves d'Odonates), soit sous forme d'uréides glyoxyliques (dans les autres cas). Nous insistons sur le fait qu'il n'existe actuellement aucun cas connu d'Insecte capable de transformer l'azote de ses purines en ammoniaque.

L'élaboration, puis l'élimination d'urée et d'ammoniaque, montrent que les catabolites azotés d'origine protidique peuvent parfois échapper, en partie tout au moins, aux processus de synthèse aboutissant à l'acide urique.

# DISCUSSION GÉNÉRALE

On remarque que le catabolisme de l'acide urique a été peu étudié chez les Insectes avant le présent travail. Les auteurs en restaient tous à l'acide urique. Les plus anciens d'entre eux ne connaissaient pas les phénomènes de l'uricolyse, et ne pouvaient donc pas les rechercher. Les auteurs plus récents admettaient la règle de Przylecki (1925) d'après laquelle la formation d'acide urique par voie de synthèse et sa dégradation enzymatique ne peuvent coexister dans le même organisme animal. Pourtant, à partir de 1935, les travaux de Fosse et son école ayant permis la mise au point de méthodes faciles pour la caractérisation des uréides glyoxyliques et ayant tiré au clair le schéma métabolique de l'uricolyse, divers chercheurs se sont attaqués au problème du catabolisme de l'acide urique chez quelques Insectes, et ont obtenu des résultats positifs. Cependant, la majeure partie des auteurs continuaient de considérer de façon absolue les Insectes comme incapables de dégrader l'acide urique, sans d'ailleurs, pour la plupart, chercher à vérifier si cette opinion était conforme à la réalité. Nous avons apporté la preuve que chez les Insectes l'uricolyse existe ; elle n'affecte pas toutes les espèces, mais a cependant une assez grande répartition ; elle aboutit à la formation d'allantoïne ou d'acide allantoïque, dans la grande majorité des cas.

Avec Florkin et Duchateau (1943), nous avons reconnu que la méthode de la mise en évidence des enzymes de l'uricolyse n'est qu'une méthode indirecte, indiquant que l'organisme considéré possède les éléments nécessaires pour conduire son catabolisme jusqu'à un stade donné. C'est pourquoi nous avons recherché si réellement sont présents chez nos sujets les catabolites susceptibles d'y être élaborés. Une telle recherche est facilitée chez les Insectes par le fait que l'acide urique et ses catabolites y sont généralement abondants, car, ainsi que nous l'avons vu, ils sont l'aboutissement de tout le catabolisme azoté.

Craignant d'être tenté d'émettre des conclusions insuffisamment fondées ou d'effectuer des généralisations imprudentes à partir de trop peu d'éléments, nous avons porté nos recherches sur le plus grand nombre possible d'Insectes. L'importance des résultats obtenus nous a suggéré de nombreuses remarques, tant sur le plan de la relation entre l'acide urique ou son catabolisme et la vie de l'Insecte, considéré comme individu, que sur celui de la phylogénèse et de l'évolution des Insectes en général.

A. — *L'acide urique et l'uricolyse dans la vie individuelle de l'Insecte.*

Nous avons vu que la teneur des tissus des Insectes en acide urique et en ses catabolites est dans de nombreux cas particulièrement importante. On sait depuis très longtemps que les Insectes sont caractérisés par une uricémie importante (cf. Von Furth, 1903 ; Florkin, 1952). Mais la teneur en allantoïne et en acide allantoïque est tout aussi remarquable chez certains d'entre eux.

La quantité d'acide urique présente dans un Insecte donné peut montrer des variations notables. Nous avons déjà signalé que Florkin, Brighenti, Manunta ont montré que la teneur de l'hémolymphe en acide urique dissous est susceptible de modifications importantes. Mais la quantité d'acide urique précipité, concrétisé, peut elle-même subir de grandes variations. Ainsi Pérez (1910), Roubaud (1922, 1923) ont montré que chez divers Diptères (Muscides, Culicides), on observe au début de l'hiver une grande accumulation de l'acide urique, qui ne tarde pas à précipiter et à se déposer dans divers organes ; à la fin de l'hiver, tout cet acide urique a disparu resolubilisé, puis éliminé. Roubaud considère qu'il s'effectue pendant l'hiver des phénomènes d'épuration physiologique de l'organisme. Hollande (1914) a signalé une semblable accumulation passagère d'urates chez les chenilles de *Vanessa io* et d'*Aglais urticae* ; mais il a observé que ce stockage nécessaire ne porte que sur les urates endogènes ; les urates injectés à ces chenilles sont immédiatement éliminés par les tubes de Malpighi. On a ainsi noté des accumulations transitoires d'acide urique dans des organes divers : tissu adipeux, tube digestif, hémolymphe, hypoderme.

Nous disions précédemment combien est remarquable, et même étonnante, la teneur de nombreux Insectes en acide urique et en produits qui en dérivent. Ce qui est plus remarquable encore, c'est la possibilité pour ces organismes de modifier cette teneur dans les proportions signalées ci-dessus. Après avoir stocké pendant une période donnée son acide urique dans ses divers organes, l'Insecte le reprend, le resolubilise, puis l'élimine, peut-être après l'avoir dégradé.

On cherche souvent, et de façon spontanée, à comparer les Insectes aux Vertébrés. Il convient plutôt d'insister sur les grandes différences qui les opposent. L'embranchement des Vertébrés contient un certain nombre de classes dont les espèces semblent fixées, ayant des caractères bien tranchés, un métabolisme précis, sous la dépendance plus ou moins directe des centres nerveux. Leur organisation est caractérisée par une centralisation importante. Par opposition, la classe des Insectes montre des organismes labiles, doués de potentialités nombreuses, de telle sorte que pour une fonction donnée il puisse se trouver éventuellement de nombreuses suppléances possibles. Au point de vue neuro-physiologique, l'Insecte possède une organisation très décentralisée, douée d'une grande plasticité. Le Vertébré doit éliminer ses catabolites azotés au fur et à mesure de leur formation ; pour son organisme, toute accumulation d'urée ou d'acide urique devient vite pathologique. Il est normal pour l'Insecte de stocker dans ses tissus une énorme quantité d'acide urique, dont il se débarrassera plus tard, à un moment donné, sous des influences qui restent à définir.

Depuis très longtemps, et à de nombreuses reprises, on a signalé la présence d'acide urique dans le tégument de certains Insectes ; on considérait même que dans ces cas il joue un rôle dans la pigmentation de ce tégument. On s'est toutefois demandé depuis si les substances ainsi regardées comme de l'acide urique en étaient réellement. Becker (1937) a repris la question et a prouvé que dans la majorité des cas il s'agit de ptérines. Il n'en reste pas moins vrai que chez quelques Insectes l'acide urique participe réellement à la pigmentation du tégument. Becker l'a observé de façon indubitable dans l'hypoderme abdominal ventral du Diptère Tipulide *Pachyrrhina crocata* L. : les bandes jaunes qui s'y trouvent doivent leur coloration à des dépôts d'acide urique. C'est aussi le cas de la chenille de *Bombyx mori* L., race dite « à peau normale » ; Branchini Scatizzi (1946) a montré en effet que le pigment hypodermique responsable de la coloration du tégument de ces chenilles est constitué par de l'acide urique ou des urates, et que l'absence d'un tel pigment est le propre de la race dite « à peau transparente ». Nous avons vu que l'acide urique (Wigglesworth, 1924 ; Tartter, 1940) ainsi que l'allantoïne (Schöpf, Kottler et Reichert, 1939) participent à la pigmentation des ailes de certains Lepidoptères.

On peut se demander si dans ces derniers cas, où leur présence dans le tégument a été vérifiée avec soin, l'acide urique et l'allantoïne ne doivent pas être considérés comme des éléments spécialement élaborés par l'organisme en vue d'une action bien définie, plutôt que comme des substances de déchets, venues là on ne sait pourquoi.

Peut-être pourrait-on observer chez les Insectes capables d'éla-

borer des uréides glyoxyliques des variations analogues à celles qui ont été constatées à propos de l'acide urique ? Nous avons seulement remarqué que l'hémolymphe de certaines larves d'Holométaboles (Hyménoptères Symphytes, Lépidoptères) contient peu avant la nymphose une grande quantité d'acide allantoïque. Mais, nous n'avons calculé la teneur en acide urique et en uréides pendant toute la vie d'aucun des Insectes étudiés. Nous avons certes constaté que la teneur des excreta en acide urique et en uréides varie de façon notable en fonction du développement, chez les larves d'Holométaboles. Ne peut-on pas penser que des différences semblables peuvent se retrouver dans le milieu intérieur des sujets eux-mêmes ?

Nous avons d'ailleurs peu étudié les sujets en cours de développement. Nos recherches ont été limitées à des larves d'Hémimétaboles au dernier stade, (larves très différentes biologiquement et morphologiquement des imagos), ainsi qu'à des larves d'Holométaboles, le plus souvent au dernier stade également. Des recherches systématiques des catabolites et des enzymes capables d'amener leur formation, conduites sur des Insectes de tous les Ordres, pendant tout leur développement, pourront certes permettre de préciser ce qui est déjà connu et d'effectuer des observations du plus haut intérêt.

Tout fragmentaires qu'ils soient, les résultats déjà acquis à propos de quelques Holométaboles à leurs divers stades nous ont déjà procuré des renseignements valables. Chez certains de ces Insectes, on observe aux trois stades (larvaire, nymphal et imaginal), un schéma métabolique sensiblement le même, l'importance de l'uricolyse pouvant cependant varier. Ainsi, *Aglais urticae*, *Vanessa atalanta*, sont capables pendant toute leur vie de conduire l'uricolyse jusqu'à l'acide allantoïque ; toutefois, chez *Aglais urticae*, la quantité d'acide urique catabolisée est prédominante au stade larvaire ; chez *Vanessa atalanta* par contre, l'uricolyse est très limitée chez la chenille, et n'affecte la plus grande partie de son substrat que chez l'imago. Deux cas assez différents ont été observés chez des Diptères Nématocères : *Bibio marci* est fortement uricolytique au stade larvaire, mais fort peu au stade imaginal ; dans le genre *Tipula* c'est le contraire, et l'uricolyse n'est vraiment importante que chez l'imago. Les Trichoptères adultes sont caractérisés par un catabolisme uricolytique allant jusqu'au stade acide allantoïque, et cet uréide peut être caractérisé en quantité appréciable chez ces Insectes. Il ne semble pas qu'il en soit de même chez leurs larves.

On peut être étonné de la formation de concrétions d'acide urique et de leur élimination chez des Insectes cependant pourvus d'enzymes uricolytiques. C'est en particulier le cas du Grillon *Acheta domestica*.

Berkaloff (1958, 1959) a observé que la formation de ces concrétions d'urates des tubes de Malpighi d'*Acheta domestica* a lieu exclusivement à l'intérieur de cytomembranes invaginées depuis la membrane cellulaire vers l'intérieur de la cellule. Les concrétions continuent de grossir dans ces cytomembranes, puis les perforent, passent dans le cytoplasme, avant d'être enfin éliminées dans la lumière du tube.

Les tubes de Malpighi de ce Grillon contiennent un peu d'uricase. Nous n'avons pu préciser la localisation intracellulaire de cette enzyme, ni chez cet Insecte ni chez aucun autre. Nous savons cependant que des recherches effectuées sur des cellules hépatiques de Mammifères, riches en uricase, ont montré que la plus grande partie de l'enzyme semble localisée dans les mitochondries (Schein, Polber et Novikoff, 1951 ; Scheinder et Hogeboom, 1952 ; Mellors, 1959 ; Schneider, 1959). On peut se demander s'il n'en est pas de même chez les Insectes ; cela expliquerait que les molécules d'acide urique et d'uricase ne se rencontrent pas, bien que situées dans la même cellule, car si les concrétions d'urates apparaissent à l'intérieur des cytomembranes observées par Berkaloff, les mitochondries sont toujours situées à l'extérieur de ces formations.

Chez les Vertébrés, le métabolisme général, et l'élaboration de l'urine en particulier sont sous la dépendance d'une série de substances hormonales secrétées par l'hypophyse et transportées par le sang aux organes dont elles sont susceptibles de déclencher ou de modifier le fonctionnement.

Il ne semble pas toutefois qu'on ait jusqu'ici observé que de semblables facteurs hormonaux hypophysaires puissent influer sur la présence ou l'absence d'uricolyse. Bodenstein (1952), L'Hélias (1956, 1957) ont recherché si le métabolisme de l'acide urique chez les Insectes peut être influencé par le complexe endocrinien rétro-cérébral formé par les *corpora cardiaca* et les *corpora allata*. Bodenstein a remarqué chez la Blatte *Periplaneta americana* la disparition des urates du tissu adipeux après ablation de tout le complexe rétro-cérébral (*corpora cardiaca* et *allata*). On n'observe rien de semblable si les *corpora allata* sont seuls enlevés. Si on greffe des *corpora cardiaca* à un sujet ayant subi l'ablation du complexe rétro-cérébral, les urates apparaissent de nouveau. L'auteur en a conclu à une action des *corpora cardiaca* sur le mécanisme de la formation des urates.

L'Hélias a effectué des observations un peu semblables sur le Phasme *Carausius morosus* : l'ablation des *corpora cardiaca* est suivie d'une diminution du taux d'acide urique ; par contre l'ablation des *corpora allata* amène une augmentation de ce taux. On peut penser que *corpora cardiaca* et *corpora allata* ont une action antagoniste relativement à la formation d'acide urique et à sa

rétention dans le corps de l'Insecte, les *corpora cardiaca* semblant favoriser son accumulation, l'action des *corpora allata* par contre pouvant amener sa disparition. Le mécanisme de ces phénomènes ne semble pas élucidé : d'après L'Hélias, en l'absence des *corpora cardiaca*, la xanthine-oxydase, qui catalyse la formation d'acide urique à partir de la xanthine, n'est plus secrétée ; cette enzyme est par contre élaborée en grande abondance lorsque les *corpora allata* sont seuls absents. L'auteur considère que les *corpora cardiaca* déclenchent la sécrétion de xanthine-oxydase par la libération dans l'organisme d'un inducteur spécifique dont l'action est normalement limitée par l'action antagoniste d'une autre substance secrétée par les *corpora allata*. Cette hypothèse peut rendre compte de l'arrêt de la formation de l'acide urique après ablation des *corpora cardiaca*, elle n'explique pas la disparition de l'acide urique formé avant l'opération. C'est pourquoi on peut se demander si les *corpora allata* ne sont pas capables de déclencher une action uricolytique, quand ils n'en sont pas empêchés par les *corpora cardiaca*. Il ne semble pas vraisemblable que l'uricase puisse être secrétée par ces organes ; mais on peut penser que les *corpora allata* secrètent et déversent dans l'hémolymphe un inducteur spécifique amenant un autre organe (tissu adipeux ou tubes de Malpighi) à secréter de l'uricase, à la condition toutefois qu'un inhibiteur produit par les *corpora cardiaca* ne s'y oppose pas. Les enzymes de l'uricolyse devraient, si cette hypothèse se vérifie, être considérées non comme des enzymes constitutives au sens strict, mais comme des enzymes inductibles, dont la synthèse par l'organisme serait commandée par un mécanisme d'induction, dépendant du complexe endocrinien rétro-cérébral (cf. Monod, 1955).

Nous avons déjà évoqué les relations susceptibles d'être envisagées entre le catabolisme de l'acide urique et le régime alimentaire. Nous avons vu que de semblables relations ne sont guère observées que chez les Coléoptères. Il semble qu'en général les Coléoptères phytophages soient uricotéliques, tandis que les espèces à régime au moins partiellement carnassier sont uricolytiques et capables de dégrader l'acide urique en acide allantoïque. Cette uricolyse n'est d'ailleurs que fort limitée, et le plus souvent une bonne partie de l'acide urique y échappe ; et il y a de nombreuses exceptions.

De telles relations, si imparfaites soient-elles, entre le catabolisme de l'acide urique et le régime alimentaire, ne s'observent pas dans les autres ordres d'Insectes. L'uricotélie est rencontrée chez de nombreux Insectes carnassiers (Paléoptères, Polynéoptères, Hétéroptères hématophages, certains Diptères, Trichoptères, le plus grand nombre des Hyménoptères, etc...) ainsi que chez des Phytophages (divers Polynéoptères, Homoptères, certains Lépidoptères). Par contre on observe une uricolyse allant jusqu'au stade allan-

toïne chez diverses Mouches créophages et chez la plupart des Hétéroptères (phytophages, entomophages, ou à régime mixte). L'uricolyse va jusqu'au stade acide allantoïque chez des carnivores (Névroptéroïdes, Mécoptères, Trichoptères) et chez des herbivores (Hyménoptères Symphytes, Diptères Nématocères Tipulides et Bibionides, nombreux Lépidoptères).

En général, le régime alimentaire semble n'avoir que peu d'influence sur le métabolisme de l'acide urique. Cette conclusion peut être illustrée en rappelant que sur une plante donnée peuvent vivre des Insectes au métabolisme très différent. Nous avons évoqué un cas semblable à propos des diverses espèces qui consomment de l'Aulne. De même sur *Urtica dioïca* vivent les chenilles de *Vanessa io* et d'*Aglais urticae* à prédominance allantoïcotélique, celles de *Vanessa atalanta* et de *Plusia gamma* à prédominance uricotélique, ainsi que les imagos de l'Hétéroptère *Heterogaster urticae* qui élimine de l'allantoïne et le Charançon *Phyllobius urticae* qui est seulement uricotélique.

Nous avons cependant remarqué que dans certains cas la nature ou la quantité des catabolites émis dans les excreta peut varier selon la nourriture ingérée. Nous avons expliqué ces différences en considérant que la présence dans les excreta de certaines substances suppose que des éléments bien précis soient apportés par l'alimentation à l'organisme considéré. A partir des éléments à sa disposition, cet organisme élabore, ou n'élabore pas, les catabolites étudiés ici, selon qu'il possède, ou ne possède pas, les enzymes nécessaires à cette élaboration.

Si la nourriture semble n'avoir que peu d'influence sur l'uricolyse, il n'en est pas de même, semble-t-il, de certains autres facteurs.

Une température moyennement élevée semble favoriser l'uricolyse. Nous avons en effet remarqué que le froid diminue l'activité de l'uricase et de l'allantoïnase. D'ailleurs, le métabolisme tout entier semble moins important pendant l'hiver. C'est pourquoi nous avons admis que les variations alors observées quant à l'activité des enzymes de l'uricolyse correspondent aux modifications du métabolisme général lui-même.

Nous insisterons spécialement sur le point particulier de l'uricase de certains Insectes vivant en populations très denses. Nous avons observé des différences notables dans l'activité de l'uricase d'*Aquarius najas* capturés à l'automne dans les mêmes biotopes en 1958 et 1959 ; les sujets utilisés en 1958 possédaient en effet beaucoup plus d'enzyme. Nous avons émis l'hypothèse que semblable différence peut être expliquée par un « effet de masse » ayant amené en 1958 une augmentation de l'activité uricasique.

On sait que dans les populations animales homogènes, les indi-

vidus réagissent les uns sur les autres ; à la suite de ces interactions peuvent se trouver induites des modifications morphologiques ou physiologiques. Grassé (1958) répartit l'ensemble de ces phénomènes en deux catégories : l'une est l'effet dit « de groupe » ; il s'observe en particulier dans des populations peu denses ; les individus de ces populations se causent les uns aux autres des stimulations sensorielles (oculaires, olfactives ou autres) qui induisent par voie neuro-psychologique des modifications sur leur morphologie ou leur physiologie.

Si les populations sont très denses, il peut se manifester en outre un nouveau phénomène, c'est « l'effet de masse ». Il provient du fait que les animaux émettent alors dans le milieu des substances variées (excreta, sécrétions diverses) dont l'ingestion ou le contact peut induire des propriétés nouvelles, qui n'apparaissent pas lorsqu'il y a seulement effet de groupe.

Les *Aquarius najas* ne sont jamais isolés. Nous pensons que ces Insectes subissent toujours, même dans les populations les plus clairsemées, l'effet de groupe. Il nous est d'ailleurs impossible de savoir actuellement quel est chez eux le résultat de cet effet de groupe.

Nous nous sommes demandé si en 1958, il ne s'est pas manifesté un effet de masse particulièrement marqué. En effet, les *Aquarius* formaient alors des populations extrêmement denses. Il leur arrivait de se chevaucher fréquemment, et on peut penser qu'ils déposaient alors les uns sur les autres leurs excreta ou le produit de sécrétion de leurs glandes hypodermiques ; il a pu s'ensuivre un effet de masse important se manifestant entre autres par une augmentation de l'activité uricasique.

Par contre en 1959, nos captures d'*Aquarius* ont été effectuées à partir de populations peu importantes, clairsemées, et nous en avons tiré une uricase moins active que celle de l'année précédente.

Nous avons rapporté une observation semblable à propos de l'activité de préparations d'uricase élaborées à partir d'exemplaires de l'Hétéroptère *Pyrrhocoris apterus*, à l'automne 1958 et à l'automne 1959 ; et tout comme dans le cas cité précédemment, nous avons obtenu en 1958 une préparation beaucoup plus riche en uricase. Peut-être ce fait est-il encore dû à un effet de masse. En 1959, nos sujets étaient peu abondants, disséminés ; de plus nous les avons utilisés peu après leur capture. En 1958, les *Pyrrhocoris* étaient beaucoup plus nombreux dans leurs stations ; nous avions pu alors en capturer de grandes quantités et les avions d'ailleurs gardés vivants assez longtemps au laboratoire dans un espace très restreint, ce qui avait pu amener chez eux un effet de masse particulièrement marqué.

Notre hypothèse rejoint les observations de Mathée (1945) sur

les Orthoptères *Locusta migratoria* et *Locusta pardalina* ainsi que sur les chenilles des Lépidoptères Noctuoïdes *Laphygma exempta* et *Spodoptera abyssinia*. Cet auteur a constaté que chez les sujets isolés le taux d'acide urique est supérieur à celui que l'on observe chez les sujets groupés. Peut-être chez ces derniers s'opère-t-il une sécrétion d'uricase responsable de la disparition d'une partie de l'acide urique ?

L'explication émise dans les cas ainsi étudiés n'est encore qu'une hypothèse. Certes, la concordance entre les observations effectuées chez deux espèces (*Aquarius* et *Pyrrhocoris*), le rapprochement justifié avec les travaux de Mathée, permettent déjà, semble-t-il, de la considérer comme valable. Nous nous proposons de la vérifier ultérieurement par des recherches plus systématiques. Des expériences simultanées conduites sur des espèces diverses seront effectuées en parallèle, à la fois sur des sujets isolés, sur de petits groupes (de 2 ou 3 individus) et sur des populations très denses. On pourra alors en apprécier la valeur. Si elle s'avère exacte, elle fournira un nouvel argument en faveur de la plasticité de l'organisme des Insectes.

B. — *L'acide urique et l'uricolyse en fonction de la phylogénèse et de l'évolution des Insectes.*

En général, les propriétés uricolytiques des Insectes semblent réparties indépendamment de la classification. C'est là un fait que nous avons souvent noté. Nous avons même insisté sur ce point, remarquant qu'une distribution aussi irrégulière des enzymes de l'uricolyse interdit pratiquement toute généralisation.

Rappelons que l'uricolyse peut être conduite assez loin chez certains Aptérygotes, tels que quelques Collemboles ; les Thysanoures par contre sont uricotéliques. Parmi les Ptérygotes, les Hétérométaboles sont en général uricotéliques, à l'exception des Hétéroptères, dont la plupart sont allantoïnotéliques. Chez les Holométaboles, le catabolisme présente de grandes variations, et dans chacun des ordres, on peut trouver des espèces uricotéliques et des espèces uricolytiques, dont l'uricolyse aboutit à l'allantoïne ou à l'acide allantoïque. La présence de traces d'allantoïcase dans certains cas laisse supposer que le catabolisme peut aller encore plus loin.

On a souvent coutume de chercher à faire un parallèle entre les variations du catabolisme de l'acide urique et la phylogénèse. Il ne semble pas qu'une étude du problème d'après ce point de vue puisse apporter chez les Insectes quelque explication. Actuellement, la classe des Insectes montre un épanouissement particulièrement important..., et on ne saurait dire que toutes les formes

connues proviennent d'un ancêtre commun. On peut même penser que dès l'origine la souche des Insectes a montré un certain polymorphisme, et que divers phyla ont pu se développer en parallèle, s'épanouissant au cours des temps en espèces très nombreuses.

Il existe des Insectes très anciens qui ne semblent pas avoir évolué sur le plan morphologique depuis très longtemps. Les uns (Mégaloptères, certains Plannipennes, Mécoptères) sont uricolytiques et éliminent de l'acide allantoïque. D'autres (Ephémères, Odonates, Dictyoptères, Homoptères) sont par contre uricotéliques. On remarque une particulière abondance d'acide urique précipité chez quelques-uns d'entre eux, et on peut rapprocher cette observation des remarques de Blagoveschenski (1929) sur la sénescence des espèces végétales. Pour cet auteur, les organismes végétaux anciens ont tendance à élaborer puis à accumuler des composés cycliques (terpénoïdes, glucosides), dont l'abondance amène une auto-intoxication de la cellule vivante ; il considère que c'est là un signe de la sénescence des espèces étudiées, et que l'accumulation ainsi constatée peut amener leur extinction. On peut se demander avec Lwoff (1943) s'il n'en est pas de même chez les animaux, et chez les Insectes en particulier : l'acide urique est un composé cyclique, et son accumulation est particulièrement marquée chez des Insectes très anciens, tels que certaines Blattes, dont le tissu adipeux devient à la fin de leur vie complètement saturé d'acide urique.

A notre avis, la théorie de Blagoveschenski ne semble pas s'appliquer de façon aussi nette à l'organisme des Insectes. Certes on assiste dans certains cas à une réelle surcharge de l'organisme par l'acide urique ; mais si c'est là un caractère de sénilité chez les sujets âgés, on ne peut en conclure avec certitude que ce soit un signe de sénescence de l'espèce. D'ailleurs, nous savons que l'organisme de nombreux Insectes est caractérisé par une grande plasticité, par des potentialités qui lui permettent de se saturer complètement d'acide urique pendant une période donnée, et ensuite de s'en débarrasser totalement.

C'est peut-être d'ailleurs cette grande plasticité, toutes ces potentialités, qui ont permis aux Insectes de s'adapter à des conditions de vie très variables, et qui ont favorisé leur grand épanouissement et leur grande distribution.

On peut se demander si certains facteurs écologiques, tels que l'habitat, n'ont pas une influence importante sur les phénomènes métaboliques envisagés dans ce travail. Delaunay (1934) considère que chez les êtres primitifs, aquatiques, la dégradation de tous les corps azotés est conduite jusqu'à l'ammoniaque. Toutefois, les composés ammoniacaux ainsi formés étant très toxiques doivent être éliminés au fur et à mesure de leur formation ; une telle élimi-

nation est particulièrement facile chez les animaux aquatiques, grâce à une intense circulation de l'eau. Les organismes étant devenus terrestres, la quantité d'eau disponible n'a plus été suffisante pour permettre une élimination assez rapide des composés ammoniacaux, qui risquaient de s'accumuler. C'est alors que les organismes ont élaboré de l'urée, corps très soluble, peu toxique, nécessitant peu d'eau pour son élimination, ou même de l'acide urique, qui est évacué précipité, sans nécessiter de pertes d'eau. Delaunay conclut en considérant que ces « processus d'uréogénèse et d'uricogénèse effectués à partir de l'ammoniaque libérée au cours du métabolisme des protides représentent des mécanismes chimiques d'adaptation qui évitent l'accumulation de composés ammoniacaux toxiques dans le milieu intérieur, et sont ainsi nécessaires pour la vie terrestre ».

Tel est aussi l'avis de Needham (1935, 1950). Etudiant le métabolisme azoté des diverses espèces de *Littorina* vivant sur nos côtes, cet auteur a observé qu'elles n'élaborent pas le même catabolite azoté dans les mêmes proportions, et il a remarqué l'existence d'une relation entre leur habitat et leur excrétion azotée. *Littorina littorea* vit dans la partie inférieure de la zone de balancement des marées, zone qui n'est généralement exondée que pendant des durées assez courtes ; elle contient très peu d'acide urique. On en trouve davantage chez *Littorina obtusata* dont le domaine est situé à un niveau supérieur, recouvert cependant à chaque marée. *Littorina saxatilis* se trouve normalement à un niveau longuement exondé, atteint seulement à la pleine mer ; elle est encore plus riche en acide urique. La teneur la plus importante est observée chez *Littorina neritoides* qui vit au-dessus de la zone recouverte normalement aux marées, et ne reçoit guère que l'eau des embruns.

Brunel et Fischer (1953, 1954) ont effectué des observations analogues. Ils ont remarqué que parmi les Gastéropodes littoraux la chaîne complète de l'uricolyse n'est observée que chez les espèces franchement aquatiques, alors que les espèces terrestres ont perdu cette chaîne enzymatique et ont acquis un métabolisme uricotélique. Ces auteurs font toutefois remarquer qu'il y a de nombreuses exceptions et qu'il faut se garder de trop généraliser.

Needham considère pourtant que des organismes devenus terrestres peuvent encore élaborer des catabolites azotés plus dégradés que l'acide urique. Pour cet auteur, un animal terrestre, dont la vie embryonnaire (prénatale) a lieu en milieu aquatique, peut produire des catabolites azotés dégradés, tels que l'urée et l'ammoniaque ; il considère que c'est le cas des Mammifères dont l'embryon baigne dans le liquide amniotique.

On admet que normalement les Insectes sont des animaux terrestres et que ceux d'entr'eux qui vivent actuellement dans

l'eau y sont retournés secondairement. On peut toutefois se demander si certaines larves n'ont pas toujours été aquatiques.

Sauf dans ce cas très particulier, les théories exposées ci-dessus font considérer l'uricotélie comme un phénomène normal chez les Insectes. Elles sont d'ailleurs reprises par la plupart des auteurs actuels (cf. Florkin, 1947 ; Edney, 1957). On ne peut tirer aucun argument de la vie prénatale des Insectes, dont les caractéristiques semblent identiques chez toutes les espèces.

Il semble pourtant difficile d'appliquer intégralement ces théories à l'ensemble des Insectes. Elles peuvent certes aider à comprendre l'uricotélie de beaucoup d'entr'eux ; mais elles ne paraissent pas susceptibles d'être appliquées aux espèces uricolytiques, à moins de les considérer comme évoluant peu à peu vers l'uricotélie.

Les larves aquatiques qui éliminent de l'ammoniaque sont parfois considérées comme pourvues d'un catabolisme correspondant au cas primitif de Delaunay. Nous rappelons que dans tous les cas connus, cette ammoniaque est uniquement d'origine protidique, et qu'elle ne provient jamais de la dégradation de l'acide urique. On observe donc chez ces sujets un catabolisme protidique aboutissant à l'ammoniaque, mais l'uricolyse y est toujours plus ou moins raccourcie. Le mécanisme synthétique d'adaptation, aboutissant à l'acide urique, y est probablement très réduit, sinon inexistant.

Reprenant les conclusions de Delaunay et de Needham, Florkin (1946, 1952) considère que l'uricotélie est le terme normal de l'évolution du catabolisme azoté chez les Insectes.

En accord avec les auteurs précédents, il considère que la possession de la chaîne enzymatique de l'uricolyse dans sa totalité, aboutissant à l'ammoniaque, est un caractère primitif. (Simultanément, chez les organismes qui le possèdent, le catabolisme des protides, par son dernier chaînon, la désamination des acides aminés, conduit également à l'ammoniaque). La chaîne enzymatique de l'uricolyse disparaît progressivement chez les espèces plus évoluées : « Chez les formes animales inférieures et chez les Invertébrés marins en particulier, on observe un catabolisme purique poussé jusqu'à la formation d'ammoniaque. Chez les autres animaux, l'évolution du catabolisme purique amène un raccourcissement de la chaîne enzymatique de l'uricolyse, par un processus nommé *enzymaphérèse* (ou perte d'enzyme) la chaîne primitive se raccourcissant progressivement par la perte de son dernier chaînon. » (Florkin, 1946).

Et c'est ainsi que, par suite des pertes successives des enzymes de l'uricolyse, sont devenus uricotéliques certains animaux tels que les Oiseaux, les Reptiles et les Insectes.

D'ailleurs, en même temps qu'a lieu cette disparition des éléments de la chaîne de l'uricolyse, va s'élaborer, à partir des catabolites d'origine protidique, un ensemble de processus synthétiques aboutissant à l'urée et même à l'acide urique, grâce aux mécanismes d'adaptation déjà signalés par Delaunay. Ces mécanismes, nommés « synthèse d'excrétion » par Florkin, permettent aux organismes d'élaborer, à la place des composés ammoniacaux toxiques, des déchets azotés d'une inocuité à peu près totale et facilement éliminables.

Telle est aussi l'opinion de Lwoff. Cet auteur est d'avis que toute évolution comporte deux aspects : un aspect régressif, les pertes d'enzymes, qu'il nomme « pertes de fonctions », et un aspect progressif, l'élaboration de substances de plus en plus compliquées. Et il considère que grâce à la perte des enzymes de l'uricolyse d'une part, et aux synthèses d'excrétion, de l'autre, tout le catabolisme azoté tend vers la formation d'acide urique. En règle générale, pour Lwoff, l'évolution physiologique n'est pas un progrès, mais une spécialisation s'effectuant principalement grâce aux pertes de fonctions.

Nous ne pouvons accepter les hypothèses ainsi émises qu'en y apportant une restriction : en effet, chez les Insectes, les deux phénomènes, perte des chaînons de l'uricolyse par enzymaphérèse, et processus des synthèses d'excrétion, ne se rejoignent pas dans tous les cas de façon complète. Certes l'acide urique est bien le point vers lequel convergent généralement les deux catabolismes azotés, nucléoprotéidique et protéidique, mais ce n'est pas toujours le point final ; dans de nombreux cas, en effet, la chaîne de l'uricolyse existe encore, plus ou moins raccourcie, il est vrai, et l'acide urique, quelle que soit sa provenance, est encore transformé soit en allantoïne, soit en acide allantoïque, soit même, peut-être, en acide glyoxylique et en urée.

Cette théorie permet d'expliquer la présence d'allantoïnase chez des espèces dépourvues d'uricase (cas de nombreux Polynéoptères, et de divers Holométaboles). Tout se passe alors comme si, dans le processus de disparition des enzymes de l'uricolyse, l'enzymaphérèse avait sauté un chaînon, et fait disparaître l'uricase avant l'allantoïnase. Cette dernière enzyme, dépourvue de substrat, ne semble plus qu'un reste de la chaîne de l'uricolyse, telle qu'elle a dû exister chez les ancêtres des sujets considérés, dans un passé plus ou moins lointain, et telle qu'on la trouve encore, ainsi que nous l'avons prouvé, chez de nombreux autres Insectes.

On se demande quels facteurs ont conduit et continuent de conduire ainsi le métabolisme vers une telle évolution. Les facteurs écologiques, mis en avant par Delaunay, Needham et Florkin ont certes joué un rôle important ; mais ils ne sauraient tout expliquer. On note en effet des différences manifestes dans les propriétés d'es-

pèces morphologiquement très proches les unes des autres, vivant dans les mêmes conditions, subissant les mêmes facteurs externes. L'évolution des espèces ne dépend-t-elle pas au premier abord de leurs caractères distinctifs, de leur constitution propre ? Rosa (1931) considère qu'elle est l'épanouissement de leur « idioplasma spécifique, présent dans leurs cellules germinales, et qui détermine par sa constitution à quelle espèce appartient l'individu ».

***

Il semble difficile d'établir une liaison entre les deux points de vue développés dans cette discussion. Dans l'un d'eux, nous avons essayé d'expliquer des faits actuels, concrets ; dans l'autre, nous sommes allé au-delà de ces faits et avons discuté certaines explications du mécanisme évolutif du problème métabolique étudié.

Chacun de ces points ne permet d'envisager qu'un aspect limité de ce problème. Ils sont étrangers l'un à l'autre, mais non en opposition ; ils se complètent et permettent une plus grande compréhension du sujet.

On ne peut terminer sans insister sur l'ampleur de la question. Elle était jusqu'ici considérée comme simple, bien résolue ; on s'aperçoit qu'en fait elle est plutôt complexe. Le problème de l'uricolyse présente chez les Insectes des aspects très variables, même dans une espèce donnée ; des facteurs divers peuvent l'influencer, en modifier les composantes ; et dans de nombreux cas on ne peut donc le considérer comme immuablement fixé.

Faut-il ne voir dans l'évolution du catabolisme de l'acide urique qu'une tendance à la régression, à la perte de fonctions, comme cherche à le démontrer Lwoff, ou y a-t-il encore place pour des acquisitions, des adaptations, ainsi que nous l'avons suggéré, nous inspirant des travaux de Monod ? L'évolution biologique, en général, est fort justement définie par Cuenot « comme l'histoire des changements présentés par la matière vivante depuis son apparition sur la terre jusqu'à l'époque actuelle ». Ces changements se présentent certes comme des régressions dans divers cas bien précis, mais dans de nombreux autres, ils se sont traduits par des progrès, des acquisitions (Vandel, 1949), progrès, acquisitions qui peuvent être l' « actuation » de « potentialités » préexistantes...

Nous arrêterons là cette discussion, car, nous inspirant en cela de la pensée d'Aristote, nous estimons que nous quittons alors « l'étude des faits concrets, mobiles et changeants, des « phénomènes », qui ne sont que la surface de l'être (domaine scientifique strict) pour chercher à découvrir le vrai sous le donné des faits, propre de la pensée pure », et domaine de la métaphysique.

## APPENDICE

### Tableau de distribution des enzymes de l'Uricolyse et des catabolites correspondants chez les Insectes

LÉGENDE

| | | |
|---|---|---|
| l | : | larves, |
| c | : | chenilles, |
| n | : | nymphes, |
| i | : | imagos. |
| | | N. B. — Dans les cas non précisés il s'agit d'imagos. |
| + | : | résultat positif, |
| — | : | résultat négatif, |
| ? | : | résultat douteux, |
| tr | : | corps n'existant qu'à l'état de traces, |
| d | : | recherches sur des exemplaires desséchés pour collections, |
| ch | : | emploi de la chromatographie sur papier dans la recherche de l'acide urique, de l'allantoïne, de l'acide allantoïque et de l'urée, |
| $NH_3$ | : | présence d'$NH_3$. |

| | ENZYMES | | | | CATABOLITES | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Uricase | Allantoïnase | Allantoïcase | Uréase | Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque | Urée | Observations |
| ***SOUS-CLASSE DES APTÉRYGOTES*** | | | | | | | | | |
| ORDRE DES COLLEMBOLES | | | | | | | | | |
| *Xenylla velchii* Folsom | + | + | + | — | | + | + | | |
| *Podura aquatica* L. | + | | — | | | | | | |
| *Anurida maritima* Laboulh. | — | ? | + | — | | — | — | | |
| *Sminthurus viridis* L. | | | — | | | | | | |
| ORDRE DES THYSANOURES | | | | | | | | | |
| *Machilis sp.* (1) | — | — | — | — | | — | — | | |
| *Halomachilis maritima* Leach. | — | — | — | | | — | — | | |
| *Lepisma saccharina* L. | — | — | — | — | + | — | — | | |
| *Ctenolepisma lineata* F. | | — | — | | | | — | | |
| ***SOUS-CLASSE DES PTÉRYGOTES*** | | | | | | | | | |
| SECTION DES PALÉOPTÈRES | | | | | | | | | |
| ORDRE DES ÉPHÉMÉROPTÈRES | | | | | | | | | |
| *Ephemera vulgata* L. (l) | — | — | — | | | — | — | | $NH_3$ |
| *Ephemera vulgata* L. (i) | — | — | — | | | — | — | | |
| ORDRE DES ODONATES | | | | | | | | | |
| **Sous-ordre des Zygoptères** | | | | | | | | | |
| *Agrion puella* L. | | | | | | | — | | |
| *Callopteryx splendens* Harr. (l) | — | — | — | — | + | — | — | | $NH_3$ |
| **Sous-ordre des Anisoptères** | | | | | | | | | |
| *Somatochlora metallica* V. d. Lind. (l) | — | — | — | — | + | — | — | | $NH_3$ |
| *Anax* sp. (l) | — | — | — | — | + | — | — | | $NH_3$ |
| *Aeschna* sp. (l) | | | — | | | — | — | | |

(1) Recherches effectuées sur deux espèces différentes, non déterminées avec précision.

| | ENZYMES | | | | CATABOLITES | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Uricase | Allantoïnase | Allantoïcase | Uréase | Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque | Urée | Observations |
| **SECTION DES POLYNÉOPTÈRES** | | | | | | | | | |
| **Ordre des Dictyoptères** | | | | | | | | | |
| *Blabera craniifer* Burm. | — | + | — | — | + | — | — | + | ch |
| » » » excreta | | | | | + | — | — | | |
| *Ectobius laponicus* L. | | — | | | | | — | | |
| *Ectobius sylvestris* F. | — | tr | | | + | + | — | | |
| *Loboptera decipiens* Germ. | — | — | — | — | + | — | — | | |
| *Blatella germanica* L. | — | + | | | + | — | — | | |
| » » excreta | | | | | — | — | — | | |
| *Periplaneta americana* L. | ? | + | — | — | + | + | — | | |
| » » excreta | | | | | + | + | — | | |
| *Blatta orientalis* L. | — | — | — | — | + | + | — | | |
| » » excreta | | | | | + | + | + | | |
| *Mantis religiosa* L. | — | — | | | + | — | — | + | ch |
| » » excreta | | | | | + | + | — | | |
| **Ordre des Isoptères** | | | | | | | | | |
| *Calotermes flavicollis* F. | — | — | | | | — | — | | |
| *Termes lucifugus* Rossi | — | — | — | — | | — | — | | |
| **Ordre des Plécoptères** | | | | | | | | | |
| *Chloroperla grammatica* Scop. | | + | | | + | — | — | + | ch |
| *Nemura nitida* Piet. | | + | | | | | — | | |
| **Ordre des Chéleutoptères** | | | | | | | | | |
| *Clonopsis gallica* Charp. | | — | | | + | — | — | — | ch |
| *Carausius morosus* Br. | ? | + | — | — | | | + | | |
| » » excreta | | | | | + | + | + | | |
| *Sypylloïdea sypylus* Westwood | — | + | | | | — | — | | |
| » » excreta | | | | | + | | + | | |
| **Ordre des Orthoptères** | | | | | | | | | |
| **Sous-ordre des Ensifères** | | | | | | | | | |
| *Phaneroptera falcata* Poda | | + | | | + | — | — | + | ch |
| *Conocephalus dorsalis* Latr. | | + | | | — | | — | | |
| *Conocephalus fuscus* F. | | + | | | + | — | + | | |
| *Tettigonia viridissima* L. | — | + | | | + | — | | — | ch |
| » » excreta | | | | | + | + | — | | |
| *Pholidoptera grisoaptera* de Geer | — | tr | — | — | + | + | | | |
| *Platycleis denticulata* Panz. | | + | | | + | | — | | |
| *Ephippiger ephippiger* Fiebig | | + | | | + | — | — | + | ch |
| *Gryllus campestris* L. | + | + | | | | | — | | |

| | ENZYMES | | | | CATABOLITES | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Uricase | Allantoïnase | Allantoïcase | Uréase | Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque | Urée | Observations |
| *Gryllus bimaculatus* de Geer | + | + | — | — | | — | — | | |
| *Acheta domestica* L. | + | + | + | — | + | + | — | — | ch |
| » » excreta | | | | | + | + | + | — | |
| *Nemobius sylvestris* Bose | — | | | | | | — | | |
| **Sous-ordre des Coelifères** | | | | | | | | | |
| *Œdipoda cœrulescens* L. | | + | | | | | + | | |
| *Stenobothrus lineatus* Panz. | — | — | | | — | — | — | | |
| *Chortippus vagans* Eversm. | | + | | | + | — | — | + | ch |
| *Chortippus longicornis* Latr. | — | — | — | — | — | + | — | — | ch |
| *Schistocerca gregaria* Forsk. | — | + | — | — | + | — | + | + | ch |
| » » excreta | | | | | + | — | + | | |
| *Locusta migratoria* L. | — | + | — | — | + | + | + | + | ch |
| » » excreta | | | | | + | — | + | | |
| ORDRE DES DERMAPTÈRES | | | | | | | | | |
| *Forficula auricularia* L. | — | + | — | — | + | + | — | | |
| SECTION DES PARANÉOPTÈRES | | | | | | | | | |
| ORDRE DES HÉTÉROPTÈRES | | | | | | | | | |
| **Sous-ordre des Gymnocérates** | | | | | | | | | |
| *Brachypelta aterrima* Forst. | + | — | | | + | + | — | + | ch |
| *Graphosoma italicum* Müll. | + | — | — | — | + | + | — | + | ch |
| *Aelia acuminata* L. | + | — | — | — | + | + | — | + | ch |
| *Carpocoris fuscispinus* Boh. | + | | | | + | + | — | + | ch |
| *Carpocoris pudicus* Poda | + | — | — | — | + | + | — | + | ch |
| *Pentatoma rufipes* L. | + | — | | | + | + | — | + | ch |
| *Peribalus vernalis* Wlff. | ? | | | | + | + | — | — | ch |
| *Eusarcoris perlatus* F. | + | — | | | + | + | — | + | ch |
| *Dolycoris baccarum* L. | + | — | — | — | + | + | — | + | ch |
| *Palomena prasina* L. | + | tr | tr | — | + | + | — | + | ch |
| » » excreta | | | | | + | + | — | | |
| *Rhaphigaster griseus* F. | + | — | — | — | + | + | — | + | ch |
| » » excreta | | | | | — | + | — | | |
| *Piezodorus lituratus* F. | + | — | — | — | + | + | — | + | ch |
| *Picromerus bidens* L. | + | tr | — | — | + | + | — | + | ch |
| *Corizus crassicornis* L. | + | — | | | + | + | — | + | ch |
| *Micrelytra fossularum* Rossi | + | — | — | — | + | + | — | + | ch |
| » » excreta | | | | | + | + | — | | |
| *Syromastes marginatus* L. | + | — | — | + | + | + | — | | |
| » » excreta | | | | | + | + | — | | |
| *Verlusia rhombea* L. excreta | | | | | + | + | — | | |
| *Myrmus miriformis* Fall. | + | — | | | + | + | — | + | ch |

| | ENZYMES | | | | CATABOLITES | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Uricase | Allantoïnase | Allantoïcase | Uréase | Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque | Urée | Observations |
| *Heterogaster urticae* Fab. | + | — | — | — | + | + | — | + | ch |
| *Pachymerus quadratus* F. | + | — | | | | + | — | | |
| *Pyrrhocoris apterus* L. | + | — | — | — | + | + | — | | |
| » » excreta | | | | | + | + | — | | |
| *Prostemma guttula* Fab. | | — | | | + | + | — | + | ch |
| *Pirates hybridus* Scop. | — | — | | | + | + | — | + | ch d |
| *Nabis ferus* L. | + | — | | | + | + | — | + | ch |
| *Nabis lativentris* Boh. | + | — | | | | + | — | | |
| *Nabis limbatus* Dahlb. | + | | | | — | + | — | + | ch |
| *Nabis rugosus* L. | + | — | | | + | + | — | — | ch |
| *Cimex lectularius* L. | — | — | — | | | — | — | | |
| *Acetropis gimmerthali* Flor. | + | — | | | + | + | — | — | ch |
| *Stenodema calcaratum* Fall. | + | tr | tr | | + | + | — | + | ch |
| *Stenodema laevigatum* L. | + | — | — | — | + | + | — | — | ch |
| *Megalocera linearis* Fuessl. | + | — | | | — | + | — | + | ch |
| *Leptopterna ferrugata* Fall. | + | — | — | — | + | + | — | — | ch |
| *Capsus ater* L. | + | | | | — | + | — | + | ch |
| *Lygus rugulipennis* Pop. | + | tr | tr | | + | + | — | — | ch |
| *Lygus pratensis* L. | + | — | — | — | + | + | — | — | ch |
| *Miridius quadrivirgatus* Costa | + | — | | | + | + | — | — | ch |
| *Calocoris norvegicus* Gmel. | + | | | | — | + | — | — | ch |
| *Calocoris ochromelas* Gmel. | + | — | — | | + | + | — | | |
| *Calocoris roseomaculatus* de G. | + | | | | + | + | — | + | ch |
| *Stenotus binotatus* F. | + | — | — | — | + | + | — | — | ch |
| *Capsodes cingulatus* F. | + | — | — | — | + | + | — | | |
| *Capsodes sulcatus* Fieb. | + | — | | | | + | — | | |
| *Phymata crassipes* F. excreta | | | | | + | + | — | | |
| *Hydrometra stagnorum* L. | + | — | | | + | + | — | — | ch |
| *Aquarius najas* de Geer | + | — | — | — | + | + | — | | |
| *Aquarius paludum* F. | + | — | — | — | | + | — | | |
| *Gerris argentatus* Schml. | + | — | — | | | + | — | | |
| *Gerris costae* Herrich-Schaeffer | + | | | | + | + | — | + | ch |
| *Gerris lacustris* L. | + | — | — | — | — | + | — | + | ch |
| *Gerris gibbifer* Schml. | + | | | | | + | — | | |
| *Velia saulii* Tam. | + | — | — | — | | + | — | | |
| **Sous-ordre des Cryptocérates** | | | | | | | | | |
| *Nepa rubra* L. | + | ? | — | — | + | + | — | — | ch |
| *Ranatra linearis* L. | + | — | — | — | + | + | — | + | ch |
| *Naucoris cimicoïdes* L. | + | — | — | — | + | + | — | + | ch |
| *Naucoris maculatus* Fab. | + | — | | | + | + | — | + | ch |
| *Notonecta glauca* L. | + | — | — | — | + | + | — | | |
| *Notonecta maculata* F. | + | — | — | — | — | + | — | + | ch |
| *Notonecta obliqua* Gallen | + | — | — | — | + | + | — | + | ch |
| *Notonecta viridis* Delcourt | + | — | — | — | + | + | — | + | ch |
| *Plea minutissima* F. | | — | | | | | — | | |
| *Corixa punctata* Illig. | - | — | — | — | + | — | — | | $NH_3$ |

| | ENZYMES | | | | CATABOLITES | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Uricase | Allantoïnase | Allantoïcase | Uréase | Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque | Urée | Observations |
| **Ordre des Homoptères** | | | | | | | | | |
| *Cicadella viridis* L. | — | — | | | + | — | — | + | ch |
| *Cercopis sanguilonenta* L. | — | — | — | — | | — | — | | |
| *Centrotus cornutus* L. | | — | | | | | — | | |
| *Psylla mali* Forst. | | — | | | | | — | | |
| *Aphis pyri* Koch. | | — | | | | | — | | |
| *Aphis brassicae* L. | + | — | | | + | + | + | + | ch |
| *Aphis rumicis* L. | — | — | | | | | — | | |
| *Aphis hederae* Kalt. | — | — | | | | — | — | | |
| *Macrosiphum rosae* Réaumur | — | — | — | | | — | — | | |
| *Macrosiphum urticae* Kalt. | + | + | | | | | — | | |
| *Macrosiphum tussilaginis* Walk. | — | — | | | — | — | — | — | ch |
| **SECTION DES OLIGONÉOPTÈRES** | | | | | | | | | |
| **Ordre des Coléoptères** | | | | | | | | | |
| **Sous-ordre des Heterogastra** | | | | | | | | | |
| *Rhagonycha fulva* Scop. | — | + | — | — | + | — | — | + | ch |
| *Cantharis fusca* L. | + | + | tr | — | + | + | + | + | ch |
| *Cantharis livida* L. | + | + | — | — | + | + | + | + | ch |
| *Malachius bipustulatus* F. | — | — | — | — | + | + | — | | |
| *Adelocera murina* L. | + | + | tr | — | + | + | + | | |
| *Ampedus pomonae* Steph | + | + | | | | | — | | |
| *Melanotus rufipes* Herbst. | | + | | | | | + | | |
| *Cidnopus pilosus* Leske | + | + | — | — | + | — | + | — | ch |
| *Athous subfuscus* O.F. Müll. | + | + | | | + | — | + | + | ch |
| *Athous hirtus* Herbst | | + | | | | | + | | |
| *Athous haemorroïdalis* F. | + | + | tr | — | + | + | + | + | ch |
| *Athous vittatus* F. | + | + | | | + | — | + | + | ch |
| *Selatosomus latus* L. | + | + | — | — | + | + | + | + | ch |
| *Selatosomus holosericeus* | + | + | | | | | + | | |
| *Agriotes pilosus* Panz. | + | + | — | — | + | — | + | + | ch |
| *Agriotes lineatus* L. | | + | | | | | + | | |
| *Agriotes obscurus* L. | + | + | — | — | | | + | | |
| *Agriotes sputator* L. | + | + | | | | | — | | |
| *Chrysobothris affinis* E. | | — | | | + | + | — | | |
| » » excreta | | — | | | + | + | — | | |
| *Thanasimus formicarius* L. | | — | | | | | — | | |
| *Bostrychus capucinus* L. | | tr | | | | — | | | |
| *Lagria hirta* L. | | — | — | — | + | + | — | | |
| *Blaps mucronata* Latr. | — | — | — | | | — | — | | |
| *Helops caraboïdes* Panz. | | — | — | | | | — | | |
| *Pyrrhochroa coccinea* L. | — | tr | — | | | — | — | | |

| | ENZYMES | | | | CATABOLITES | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Uricase | Allantoïnase | Allantoïcase | Uréase | Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque | Urée | Observations |
| *Tenebrio molitor* L. (l) | — | — | — | — | + | — | — | | |
| » » (n) | — | — | — | — | + | — | — | | |
| » » méconium | | | | | + | — | — | | |
| » » (i) | — | — | — | — | + | — | — | | |
| *Melandrya caraboïdes* L. | | — | | | | | — | | |
| *Œdemera nobilis* Scop. | | — | | | + | — | — | — | ch |
| *Melœ proscarabeus* L. | — | — | | | | — | — | | |
| *Cerambyx cerdo* L. | | — | | | | | — | | |
| *Clytus arietis* L. | | — | | | | | — | | |
| *Clytus varius* O.F. Müll. | | — | | | | | — | | |
| *Plagionotus arcuatus* L. | — | — | — | — | | — | — | | |
| *Hylotrupes bajulus* L. (l) | — | — | — | | | — | — | | |
| *Pyrrhidium sanguineum* L. | — | — | — | — | | — | — | | |
| *Judolia cerambyciformis* Schr. | | — | | | | | — | | |
| *Strangalia maculata* Poda | | — | | | | | — | | |
| *Morimus asper* Sulz. | — | — | — | — | | — | — | | |
| *Rhagium bifasciatum* F. | — | — | — | — | | — | — | | |
| *Rhagium sycophanta* Scht. | — | — | — | — | | — | — | | |
| *Donacia linearis* Hoppe | — | — | — | | | — | — | | |
| *Crioceris asparagi* L. | — | — | | | + | — | — | — | ch |
| *Leptinotarsa* 10-*lineata* Stal. | | — | — | | | | — | | |
| *Oreina tristis* F. | — | — | | | — | + | — | | |
| *Chrysomela banksi* F. | — | — | | | + | — | — | — | ch |
| *Timarcha tenebricosa* F. | — | — | — | | | — | — | | |
| *Timarcha coriaria* Laich. | — | — | — | | | — | — | | |
| *Melasoma tremulaee* L. | — | — | — | | | — | — | | |
| *Agelastica alni* L. excreta | | | | | + | — | — | | |
| *Malacosoma lusitanicum* L. | | — | | | | | — | | |
| *Cassida rubiginosa* Müll. | | — | | | | | — | | |
| *Otiorhynchus atroapterus* de Geer | | — | | | | | — | | |
| *Phyllobius urticae* de Geer | — | — | — | — | | — | — | | |
| *Balaninus tesselatus* Desbr. | | — | | | | | — | | |
| *Ceutorrhynchus assimilis* Payk. | | — | — | | | | — | | |
| **Sous-ordre des Haplogastra** | | | | | | | | | |
| *Adonia variegata* Gœze | — | — | — | + | + | — | — | | |
| *Coccinella septem-punctata* L. (l) | | — | | | | | — | | |
| » » (i) | ? | — | — | | — | + | — | ? | ch |
| *Hydrous caraboïdes* L. | — | — | — | | | — | — | | |
| *Ocypus olens* Müll. | ? | — | | | | — | — | | |
| *Staphylinus œnocephalus* de Geer | | — | | | | | — | | |
| *Paederus ruficollis* F. | — | + | | | | — | — | | |
| *Silpha thoracica* L. | + | + | — | | | | + | | |
| *Silpha lœvigata* F. | — | — | — | | | — | — | | |
| *Necrophorus mortuorum* F. | | — | | | | | — | | |
| *Hister quadrinotatus* Scriba | — | — | — | | | — | — | | |
| *Anthrenus* sp. (lar) | | — | | | | | — | | |
| *Lucanus cervus* L. | | — | | | | | — | | |

| | ENZYMES | | | | CATABOLITES | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Uricase | Allantoïnase | Allantoïcase | Uréase | Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque | Urée | Observations |
| *Dorcus parallelipipedus* L. (l) | | | | | + | — | — | — | ch |
| » » (i) | | + | | | + | — | — | + | ch |
| *Geotrupes sylvaticus* Panz. | — | — | — | | | — | — | | |
| *Rhizotrogus aestivus* Ol. | — | — | | | + | — | — | — | ch |
| *Melolontha vulgaris* F. (l) | — | + | — | | | — | + | | |
| *Melolontha vulgaris* F. (i) | — | + | — | | | — | + | | |
| » » » excreta | | | | | + | — | — | + | ch |
| *Trichius gallicus* Heer | | — | | | | | — | | |
| *Oxythyrea funesta* Poda | | — | | | | | — | | |
| *Cetonia aurata* L. | — | — | — | | | | — | | |
| **Sous-ordre des Adephaga** | | | | | | | | | |
| *Cicindela campestris* L. | + | + | — | — | + | — | — | + | ch |
| *Cicindela maritima* Latr. et Dej. | | — | | | | | — | | |
| *Cicindela hybrida* L. | + | + | | | | — | — | | |
| *Calosoma sycophanta* L. excreta | | | | | + | | + | | |
| *Carabus auratus* L. | | — | | | + | — | — | + | ch |
| *Hadrocarabus problematicus* Herbst. | + | + | — | — | + | — | — | + | ch |
| *Procrustes coriaceus* L. excreta | | | | | + | + | — | | |
| *Procrustes purpurascens* F. | + | + | | | + | — | + | + | ch |
| » » excreta | | | | | + | — | + | + | ch |
| *Chaetocarabus intricatus* L. | + | + | — | — | + | — | — | + | ch |
| » » excreta | | | | | + | — | — | — | ch |
| *Chrysocarabus auronitens* F. | + | + | | | | | — | | |
| *Cychrus caraboïdes* L. | + | + | + | — | + | + | + | | |
| *Elaphrus cupreus* Duftschm. | | — | | | | | — | | |
| *Amara tricuspidata* Dej. | + | + | — | — | + | + | + | | |
| *Platysma nigrum* Schall. | | — | | | | | — | | |
| *Dytiscus semisulcatus* Müll. (l) | + | + | — | — | ? | + | tr | | $NH_3$ |
| » » (i) | + | + | | | + | — | + | + | ch |
| *Dytiscus pisanus* Cast. | + | + | | | | | + | | |
| *Dytiscus dimidiatus* Bergit. | + | + | | | | | + | | |
| *Dytiscus marginalis* L. | | + | | | + | — | + | + | ch |
| *Cybister lateralimarginalis* de Geer | + | + | | | | | + | | |
| *Hydaticus transversalis* L. | + | + | — | — | | | — | | |
| *Acilius sulcatus* L. | — | + | | | | | + | | |
| *Colymbetes fuscus* L. | | + | | | | | + | | |
| *Agabus bipustulatus* L. | + | + | — | — | | | — | | |
| *Hygrobia tarda* Herbst. | + | + | — | — | | | — | | |
| *Laccophilus minutus* Marsh. | | + | | | | | + | | |
| *Hyphydrus ovatus* L. | + | + | | | | | — | | |
| *Gyrinus substriatus* Steph. | tr | + | | | + | — | + | + | ch |
| ORDRE DES HYMÉNOPTÈRES | | | | | | | | | |
| **Sous-ordre des Symphytes** | | | | | | | | | |
| *Sirex juvencus* L. | | + | | | | | | | |
| *Empria pulverata* Retz (l) excreta | | | | | + | + | + | | |

| | ENZYMES | | | | CATABOLITES | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Uricase | Allantoïnase | Allantoïcase | Uréase | Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque | Urée | Observations |
| *Hoplocampa testudinea* Kl. | | ? | | | | | + | | |
| *Hemichroa alni* L. (l) excreta | | | | | + | — | — | | |
| *Hemichroa crocea* Geoff. (l) | ? | + | — | — | + | — | + | + | ch |
| » » » excreta | | | | | + | + | + | | |
| *Priophorus pallipes* Lep. (l) excreta | | | | | + | + | + | + | ch |
| *Platycampus luridiventris* Fall. (l) excr. | | | | | + | | — | | |
| *Croesus latipes* Vill. (l) excreta | | | | | + | | — | | |
| *Croesus septentrionalis* L. (l) | + | + | — | — | + | — | + | + | ch |
| » » excreta | | | | | + | — | + | — | ch |
| *Pteronidea bipartita* Lep. (l) | | ? | | | | | + | | |
| *Pteronidea peocilonota* Zadd. (l) | ? | ? | — | — | | | + | | |
| *Pteronidea ribesi* Scop. (l) | ? | + | — | — | — | + | + | + | ch |
| » » excreta | | | | | + | + | + | | |
| » » (i) | + | + | | | | | + | | |
| *Pteronidea salicis* L. (l) | + | + | — | — | + | + | + | + | ch |
| » » excreta | | | | | + | — | + | + | ch |
| *Cimbex 4-maculata* Müll. (l) excreta | | | | | + | | + | | |
| *Diprion pini* L. (l) | + | + | — | + | + | — | + | + | ch |
| » » excreta | | | | | + | — | — | + | ch |
| » » (i) | | + | — | + | + | — | — | — | ch |

**Sous-ordre des Pétiolés**

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Microgaster glomeratus* L. | | + | | | | | | | |
| *Dryophanta folii* L. (l) | | + | | | | | — | | |
| *Biorrhiza aptera* Bosc. | + | + | — | — | | | + | | |
| *Biorrhiza pallida* Oliv. | — | + | | | + | — | + | + | ch |
| *Formica rufa* L. (n) | + | + | | | | | | | |
| » » (i) ♀ | | — | | | | | — | | Acide formique |
| *Formica piniphila* Scheuk. | ? | ? | | | + | | + | | |
| *Dendrolasius fuliginosus* Latr. | | — | | | | | — | | |
| *Serviformica fusca* L. | | + | | | | | — | | |
| *Myrmica scabrinodis* Nyl. | | + | | | | | + | | |
| *Formicina nigra* Latr. (l) | | — | | | | | — | | |
| *Andrena cineraria* L. | — | — | | | | — | — | | |
| *Vespa crabro* L. (l) | — | — | — | — | + | — | — | | |
| » » méconium | | | | | + | — | — | | |
| » » (i) | | — | | | | | + | | |
| *Vespula vulgaris* L. | — | — | | | | — | + | | |
| *Vespula rufa* L. | | ? | | | | | + | | |
| *Vespula germanica* F. | | — | | | + | + | — | | |
| *Vespula media* de Geer | | + | | | | | + | | |
| *Polistes gallicus* L. | — | — | | | | — | — | | |
| *Xylocopa violacea* Latr. | — | — | | | | — | — | | |
| *Bombus hypnorum* L. | — | — | | | | — | — | | |
| *Apis mellifica* L. | — | — | — | | | — | — | | |

| | ENZYMES | | | | CATABOLITES | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Uricase | Allantoïnase | Allantoïcase | Uréase | Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque | Urée | Observations |
| **Ordre des Mégaloptères** | | | | | | | | | |
| *Sialis flavilatera* L. (l) | + | + | — | — | + | + | + | + | $NH_3$ |
| *Sialis flavilatera* L. (i) | + | + | tr | — | + | + | + | + | ch |
| **Ordre des Rhaphidioptères** | | | | | | | | | |
| *Rhaphidia notata* F. | | + | | | | | + | | |
| **Ordre des Plannipennes** | | | | | | | | | |
| *Osmylus chrysops* L. | | + | | | + | — | + | + | ch |
| *Uroleon nostras* Fourn. | | + | | | | | + | | |
| *Hemerobius humuli* L. | | + | | | | | + | | |
| *Chrysopa vulgaris* L. | + | + | — | — | + | — | + | + | ch |
| *Chrysopa perla* L. | | + | | | + | — | + | + | ch |
| **Ordre des Mécoptères** | | | | | | | | | |
| *Panorpa communis* L. | + | + | — | | + | — | + | + | ch |
| *Panorpa germanica* L. | | + | | — | | | + | | |
| **Ordre des Trichoptères** | | | | | | | | | |
| *Notidobia ciliaris* L. | | + | | | | | + | | |
| *Mystacides azurea* L. | + | + | — | + | + | + | + | + | ch |
| *Grammotaulius atomarius* Fab. | | + | | | + | — | + | + | ch |
| *Chaetopteryx villosa* Fab. (l) | | + | — | — | — | — | + | + | ch |
| *Limnophilus* sp. (l) | — | tr | | tr | | — | — | | |
| *Glyphotaelius pellucidus* Retz (l) | — | + | — | + | — | — | + | + | $NH_3$ |
| *Stenophylax rotundipennis* Brauer (l) | — | + | — | + | — | — | — | | $NH_3$ |
| **Ordre des Diptères** | | | | | | | | | |
| **Sous-ordre des Nématocères** | | | | | | | | | |
| *Pacchyrhina maculata* Meig. | | + | | | + | — | + | + | ch |
| *Tipula truncorum* Meig. | + | + | — | — | + | + | + | + | ch |
| *Tipula oleracea* L. | | + | | | + | + | + | + | ch |
| *Tipula pagana* Meig. | + | + | — | + | + | + | + | + | ch |
| *Tipula luteipennis* Meig. | + | + | — | — | + | | + | — | ch |
| *Tipula paludosa* Meig. (i) | + | + | — | — | + | | + | + | ch |
| » » excreta | | | | | + | + | + | | |
| *Tipula* sp. (l) | — | + | — | + | | | tr | | |
| *Monoarthropalpus buxi* Gffr. | — | — | | | | — | — | | |
| *Bibio marci* L. (l) | + | + | + | — | | | + | + | |
| » » excreta | | | | | + | + | + | | |
| » » (i) | | + | | | | | + | | |
| *Dilophus vulgaris* Mg. | | + | | | | | — | | |

| | ENZYMES | | | | CATABOLITES | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Uricase | Allantoïnase | Allantoïcase | Uréase | Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque | Urée | Observations |
| *Chaoborus cristallinus* (l) | | — | | | | | — | | |
| *Camptochironomus* sp. (l) | + | — | — | — | + | — | — | | $NH_3$ |
| *Lasiodiamesa* sp. | — | — | | — | | — | — | | $NH_3$ |
| *Tanytarsus fuscus* Mg. | | — | | | — | — | — | — | ch |
| **Sous-ordre des Brachycères** | | | | | | | | | |
| *Stratiomyia* sp. (l) | | — | | | | | — | | |
| *Tabanus bromius* L. | | — | | | + | — | — | | |
| *Xylophagus ater* Mg. | | — | | | | | — | | |
| *Eristalis tenax* L. | | — | | | | | — | | |
| *Mesembrina meridiana* L. | — | — | | | | — | — | | |
| *Drosophila melanogaster* Mg. | — | — | | | | — | — | | |
| *Scatophaga stercoraria* L. | | — | | — | + | + | — | | |
| *Chortophylla brassicae* Bouché | ? | — | — | + | — | — | — | + | ch |
| *Calliphora erythrocephala* Mg. | + | — | — | — | + | + | — | — | ch |
| *Pollenia rudis* F. | — | — | — | — | | — | — | | |
| *Melophagus ovinus* L. | — | — | — | — | | — | — | | |
| *Crataerhina pallida* Leach. | | — | | | + | | — | | |
| ORDRE DES LÉPIDOPTÈRES | | | | | | | | | |
| **Sous-ordre des Monotrysia** | | | | | | | | | |
| *Hepialus* sp. méconium | | | | | + | + | — | | |
| **Sous-ordre des Ditrysia** | | | | | | | | | |
| **Super-famille des Cossoïdea** | | | | | | | | | |
| *Cossus cossus* L. méconium | | | | | + | | — | | |
| **Super-famille des Tineoïdea** | | | | | | | | | |
| *Aegeria apiformis* Cl. (l) | | + | | | + | | + | | |
| » » (i) | | + | | | + | — | + | — | ch |
| *Leucoptera spartifoliella* Hn. (l) excreta | | | | | + | — | + | — | ch |
| *Yponomeuta padella* L. (c) | — | — | | | | — | — | | |
| » » (n) | — | — | | | | — | — | | |
| » » (i) | — | — | | | | — | — | | |
| *Yponomeuta malinellus* Z. (c) | | — | | | | — | — | | |
| » » (i) | — | — | | | | — | — | | |
| *Yponomeuta cognatella* Hb. (c) | — | — | | | | — | — | | |
| **Super-famille des Tortricoïdea** | | | | | | | | | |
| *Enarmonia pomonella* Tn. (c) | | + | | | | | — | | |
| » » (i) | ? | + | | | | | + | | |
| *Pionea forficalis* L. (c) excreta | | | | | + | | + | | |

| | ENZYMES | | | | CATABOLITES | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Uricase | Allantoïnase | Allantoïcase | Uréase | Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque | Urée | Observations |
| **Super-famille des Psychoïdea** | | | | | | | | | |
| *Fumea casta* L. (c) excreta ..... | | | | | + | — | — | + | ch |
| *Zygaena angelicae* O. ..... | | + | | | + | — | — | + | ch |
| *Zygaena carniolica* Scop. ..... | | + | | | + | — | — | — | ch d |
| *Zygaena filipendulae* L. (c) excreta .. | | | | | + | + | + | | |
| *Zygaena trifolii* Esp. (c) ..... | — | + | — | + | + | + | — | | |
| » » méconium ..... | | | | | + | + | + | — | ch |
| » » (i) ..... | | + | | | + | — | — | — | ch |
| **Super-famille des Bombycoïdea** | | | | | | | | | |
| *Antherea pernyi* Guer (c) excreta .... | | | | | + | — | — | | |
| » » (n) ..... | | — | | | | — | — | | |
| *Saturnia pavonia* L. (c) excreta ..... | | | | | + | — | — | — | ch |
| » » méconium ..... | | | | | + | — | — | + | ch |
| *Saturnia atlantica* Luc. méconium .. | | | | | + | — | — | — | ch |
| *Saturnia pyri* Schiff ..... | + | + | — | | | | + | | |
| *Bombyx mori* L. (c) ..... | — | + | — | | | | + | | |
| *Cosmotriche potatoria* L. (c) ..... | | + | | | + | — | + | — | ch |
| » » » excreta .. | | | | | + | — | + | — | ch |
| *Gastropacha quercifolia* L. (c) ..... | + | + | — | — | + | — | + | + | ch |
| » » » excreta. | | | | | + | — | — | + | ch |
| *Lasiocampa trifolii* Esp. (c) ..... | + | + | | | + | + | + | — | ch |
| » excreta .. | | | | | — | — | + | + | ch |
| *Lasiocampa quercus* L. (c) ..... | + | + | — | — | — | + | + | — | ch |
| » » » excreta ... | | | | | + | + | + | + | ch |
| » » méconium ... | | | | | + | | — | | |
| *Pœcilocampa populi* L. (c) excreta .... | | | | | + | — | + | + | ch |
| *Macrothylacea rubi* L. (c) ..... | + | + | | | | | + | | |
| » » » excreta ... | | | | | + | — | + | — | ch |
| » » (i) ..... | + | + | — | — | + | — | + | | |
| *Malacosoma neustria* L. (c) ..... | — | + | — | | | | + | | |
| » » » excreta .. | | | | | + | + | — | + | ch |
| **Super-famille des Papilionoïdea** | | | | | | | | | |
| *Papilio alexanor* Esp. ..... | + | + | tr | — | + | + | + | | d |
| *Papilio sinon* Poda ..... | + | + | | | + | — | + | + | ch d |
| *Papilio cypraefila* Butlr. ..... | | + | | | + | — | + | + | ch d |
| *Papilio demodocus* Esp. ..... | + | + | | | + | + | + | + | ch d |
| *Papilio pylades* F. ..... | + | + | | | + | — | + | — | ch d |
| *Parnassius apollo* L. ..... | — | — | | | + | + | — | + | ch d |
| *Danaïs alcippus* F. ..... | + | + | | | + | + | + | + | ch d |
| *Amauris hecate* Btlr. ..... | + | + | | | + | + | + | + | ch d |
| *Amauris psyttalea* Plötz. ..... | | + | | | + | + | + | + | ch d |
| *Amauris inferna* Btlr. ..... | | + | | | + | + | + | + | ch d |
| *Terias brenda* Bhl. et hew. ..... | | + | | | + | + | + | + | ch d |
| *Pieris calypso* Drum ..... | | + | | | + | | + | — | ch d |

| | ENZYMES | | | | CATABOLITES | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Uricase | Allantoïnase | Allantoïcase | Uréase | Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque | Urée | Observations |
| *Pieris brassicae* L. (c) | + | + | — | + | | | + | | |
| » » » excreta | | | | | + | — | + | + | ch |
| » » (n) | + | + | — | — | + | | + | | |
| » » méconium | | | | | + | + | + | + | ch |
| » » (i) | — | + | — | + | + | + | + | | |
| » » » excreta | | | | | + | — | + | + | ch |
| *Pieris rapae* L. (c) | + | + | | | | | + | | |
| » » » excreta | | | | | + | | + | | |
| » » méconium | | | | | + | | + | | |
| » » (i) | | + | — | + | + | — | + | + | ch |
| *Pieris napi* L. | | + | | | + | + | + | | |
| *Leptidia sinapis* L. | | + | | | + | + | — | + | ch |
| *Anthocaris cardamines* L. | | + | | | + | + | + | | |
| *Colias croceus* Fourc. | | + | | | + | + | + | + | ch |
| *Gonepteryx rhamni* L. (c) excreta | | | | | + | + | + | — | ch |
| » » méconium | | | | | + | | + | | |
| » » (i) | + | + | — | — | + | — | + | + | ch |
| *Vanessa atalanta* L. (c) | + | + | — | — | + | | + | | |
| » » » excreta | | | | | + | + | + | + | ch |
| » » méconium | | | | | + | + | + | + | ch |
| » » (i) | + | + | — | — | — | — | + | + | ch |
| » » » excreta | | | | | + | — | + | + | ch |
| *Vanessa c-album* L. (c) excreta | | | | | + | | + | | |
| » » méconium | | | | | + | | + | | |
| *Vanessa antiopa* L. méconium | | | | | + | — | + | — | |
| *Vanessa cardui* L. méconium | | | | | + | | + | | |
| *Vanessa io* L. (c) | + | + | — | — | + | — | + | | |
| » » » excreta | | | | | + | — | + | + | ch |
| » » (n) | + | + | — | — | | | + | | |
| » » méconium | | | | | + | + | + | + | ch |
| » » (i) | + | + | — | — | | | + | | |
| » » » excreta | | | | | + | | + | | |
| *Aglais urticae* L. (c) | + | + | — | — | + | + | + | + | ch |
| » » » excreta | | | | | + | + | + | + | |
| » » (n) | + | + | — | — | + | — | + | + | ch |
| » » méconium | | | | | + | + | + | + | ch |
| » » (i) | + | + | — | — | + | + | + | | |
| » » » excreta | | | | | + | | + | | ch |
| *Araschnia levana* L. méconium | | | | | + | + | + | + | ch |
| *Melanargia galathea* L. | | + | | | + | + | + | — | ch |
| *Satyrus ante* O. | | + | | | + | — | — | + | ch d |
| *Satyrus arethusa* Esp. | | — | | | | | — | | d |
| *Satyrus briseis* L. | | — | | | | | — | | |
| *Satyrus hermione* L. | | — | | | + | — | — | + | ch d |
| *Satyrus semele* L. | — | + | | | + | — | + | + | ch |
| *Dryas paphia* L. | | + | | | + | — | + | + | ch d |
| *Dryas maia* Cv. | + | + | — | — | + | + | + | | |
| *Argynnis aglaja* L. | + | + | | | + | — | + | — | ch d |
| *Boloria selene* Schiff. | | + | | | + | + | + | | |

| | ENZYMES | | | | CATABOLITES | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Uricase | Allantoïnase | Allantoïcase | Uréase | Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque | Urée | Observations |
| *Melitaea didyma* O. (c) excreta | | | | | + | | + | | |
| *Pararge megera* L. | + | + | — | — | + | + | + | + | ch |
| *Pararge egeria* L. | + | + | — | — | + | — | — | + | ch |
| *Epinephele jurtina* L. | — | + | — | + | + | + | + | + | ch |
| *Epinephele tithonus* L. | — | + | — | + | | — | — | | |
| *Coenonympha pamphilus* L. | + | + | — | + | + | + | + | + | ch |
| *Heodes phlaeas* L. | | + | | — | + | — | + | + | ch |
| *Callophrys rubi* L. | | + | | | + | + | + | | |
| *Polyommatus icarus* Rott. | + | + | — | + | + | — | + | + | ch |
| *Adopoaea lineola* O. | | + | | | + | + | — | | |
| *Augiades sylvanus* Esp. | | + | | | + | + | — | | |
| *Heteropterus morpheus* Pall. | | + | | | + | + | + | | |
| **Super-famille des Geometroïdea** | | | | | | | | | |
| *Abraxas grossulariata* L. (c) | — | + | — | — | | | + | | |
| » » » excreta | | | | | + | — | — | — | ch |
| » » (n) | — | + | — | — | | | | | |
| » » (i) | — | + | — | — | | | — | | |
| *Boarmia consortaria* F. (c) excreta | | | | | + | + | — | | |
| *Boarmia roboraria* Schiff. (c) excreta | | | | | + | | — | | |
| *Cabera pusaria* L. (c) excreta | | | | | + | | — | | |
| » » méconium | | | | | + | — | — | — | |
| *Chesias spartiata* Fuessl. méconium | | | | | + | | — | | |
| *Pseudopanthera macularia* L. | | — | | | + | + | — | | |
| **Super-famille des Sphingoidea** | | | | | | | | | |
| *Hyloïcus ligustri* L. (c) | | — | | | | | — | | |
| » » » excreta | | | | | + | — | — | + | ch |
| » » méconium | | | | | + | + | — | + | ch |
| » » (i) | — | — | — | — | + | — | — | | |
| *Mimas tiliae* L. (c) | | — | | | | | — | | |
| » » » excreta | | | | | + | + | — | + | ch |
| » » méconium | | | | | + | + | — | + | ch |
| *Pergesa elpenor* L. (c) excreta | | | | | + | + | — | + | ch |
| *Herse convolvuli* L. (c) excreta | | | | | + | + | — | | |
| *Amorpha populi* L. méconium | | | | | + | + | — | + | ch |
| **Super-famille des Noctuoidea** | | | | | | | | | |
| *Arctia caja* L. (c) | + | + | + | — | + | — | + | + | ch |
| » » » excreta | | | | | + | — | + | + | ch |
| *Arctia villica* L. méconium | | | | | + | — | + | | |
| » » (i) | + | + | — | — | + | — | + | | |
| *Callimorpha quadripunctaria* Poda | + | + | — | + | + | + | + | + | ch |
| *Coscinia striata* L. | | + | — | — | + | + | + | | |
| *Euchromia formosa* Guer. | | + | | | + | — | + | + | ch d |

| | ENZYMES | | | | CATABOLITES | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Uricase | Allantoïnase | Allantoïcase | Uréase | Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque | Urée | Observations |
| *Tyria jacobaeae* L. (c) | + | + | — | — | + | + | + | | |
| » » » excreta | | | | | + | — | + | — | ch |
| » » méconium | | | | | + | — | — | + | ch |
| » » (i) | + | + | — | — | + | — | + | — | ch |
| *Coenides orma* Plôtz. | + | + | | | + | — | + | + | ch d |
| *Euxoa segetum* Schiff. (c) | + | + | — | — | | | | | |
| » » » excreta | | | | | + | — | + | — | ch |
| » » méconium | | | | | + | | + | | |
| *Agrotis c-nigrum* L. | + | + | — | + | | | + | | |
| *Agrotis comes* Tr. (c) | + | + | — | — | + | | + | | |
| » » » excreta | | | | | + | — | + | + | ch |
| » » méconium | | | | | + | — | + | + | ch |
| » » (i) | | + | | — | + | | + | | |
| » » » excreta | | | | | + | | + | | |
| *Agrotis polygona* F. (c) | + | + | — | — | + | — | + | — | ch |
| » » » excreta | | | | | + | — | + | + | ch |
| *Agrotis pronuba* L. (c) | + | + | — | — | | | + | | |
| » » » excreta | | | | | — | — | + | + | ch |
| » » (i) | | + | | | + | | + | | |
| *Agrotis xanthographa* F. | | + | | | + | | + | | |
| » » excreta | | | | | + | | + | | |
| *Agrotis ypsilon* Rott. (c) | + | + | — | — | + | | + | | |
| » » » excreta | | | | | + | — | + | — | ch |
| » » (i) | + | + | | | + | | + | | |
| *Miselia pisi* L. (c) excreta | | | | | + | | + | | |
| *Lycophotia saucia* Hb. | + | + | | | + | — | + | + | ch |
| » » excreta | | | | | + | | + | | |
| *Mammestra brassicae* L. (c) | + | + | — | — | | | + | | |
| » » » excreta | | | | | + | + | + | | |
| » » (n) | + | + | — | — | | | + | | |
| » » méconium | | | | | + | | + | | |
| » » (i) excreta | | | | | + | | — | | |
| *Tholera popularis* F. | + | + | — | + | + | — | + | + | ch |
| *Monima incerta* Hufn. excreta | | | | | + | | + | | |
| *Cucullia verbasci* L. (c) | — | + | | | | | — | | |
| *Antitype flavicincta* Schiff. | + | + | | — | + | | + | | |
| » » excreta | | | | | + | | + | | |
| *Rhyzothype flammea* Esp. | + | + | | | + | — | + | + | ch |
| *Conistra vaccinii* L. (c) excreta | | | | | + | — | + | + | ch |
| » » méconium | | | | | + | — | + | + | ch |
| » » (i) | + | + | — | — | + | — | + | + | ch |
| » » » excreta | | | | | + | | + | | |
| *Amathes circellaris* Hfn | + | + | | — | + | — | + | + | ch |
| » » excreta | | | | | + | | + | | |
| *Amathes helvola* L. | | + | | + | | | + | | |
| *Amathes lota* Cl. | | + | | | + | — | + | + | ch |
| *Amathes lychnidis* Schiff. (c) excreta | | | | | + | + | + | | |
| » » » (i) | ? | + | — | + | + | | + | | |
| » » » » excreta | | | | | + | | + | | |

| | ENZYMES | | | | CATABOLITES | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Uricase | Allantoïnase | Allantoïcase | Uréase | Acide urique | Allantoïne | Ac. allantoïque | Urée | Observations |
| *Amathes macilenta* Hb. ..... | + | + | | — | + | | + | | |
| » » » excreta ..... | | | | | + | | + | | |
| *Trigonophora meticulosa* L. (c) ..... | + | + | — | — | + | | + | | |
| » » » excreta | | | | | + | — | + | + | ch |
| » » méconium | | | | | + | — | + | + | |
| » » (i) ..... | + | + | — | — | + | | + | | |
| » » » excreta | | | | | + | — | + | + | ch |
| *Acronycta rumicis* L. (c) excreta .... | | | | | + | + | + | | |
| » » méconium ..... | | | | | + | — | + | + | ch |
| *Catocala promissa* Esp. (c) excreta ... | | | | | + | — | — | + | ch |
| » » méconium ... | | | | | + | + | + | + | ch |
| *Phytometra confusa* Steph. ..... | | + | | | | | + | | |
| » » » excreta .. | | | | | + | | + | | |
| *Phytometra gamma* L. (c) excreta .... | | | | | + | + | + | + | ch |
| » » méconium .... | | | | | + | + | + | + | ch |
| » » (i) ..... | + | + | | | + | — | + | + | ch |
| » » excreta ... | | | | | + | | + | | |
| *Scoliopteryx libatrix* L. (c) ..... | | + | | | | | + | | |
| » » (i) ..... | | + | | | | | + | | |
| *Lymantria dispar* L. (c) excreta ..... | | | | | + | | + | | |
| *Orgyia gonostigma* F. (c) excreta .... | | | | | + | — | — | + | ch |
| *Stilpnotia salicis* L. (c) excreta ..... | | | | | + | | + | | |
| » » méconium ..... | | | | | + | | + | | |
| *Euproctis chrysorrhaea* L. (c) excreta. | | | | | + | | + | | |
| *Euproctis phaeorrhaea* Hw. (c) ..... | + | + | — | — | + | + | + | | |
| *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (c) | ? | + | — | | | | + | | |

## INDEX BIBLIOGRAPHIQUE


1916. — Ackroyd H., Hopkins F. G. — XLV. Feeding experiments with deficiences in the amino-acid supply : arginine and histidine as possible precursors of purines. *Biochem. J.*, **10**, 551-576.

1957. — Alper C., Seitchik J. — Comparaison of the Archibald-Kern and Stransky colorimetric procedure and the Praetorius enzymatic procedure for the determination of uric acid. *Clin. Chem.*, U.S.A., **3**, 95-101.

1955. — Anderson A. D., Patton R. L. — In vitro studies of uric acid synthesis in Insects. *J. exper. Zool.*, U.S.A., **128**, 443-51.

1931. — Ashbel R. — Produzione di ammoniaca nelle uova di bachi da seta (*Bombyx mori*) e di ricci di mare (*Paracentrotus lividis* e *Sphaerechinus granularis*). *Pubblic. Staz. Zool. Napoli*, **11**, 204-217.

1912. — Babcock S. M. — Metabolic water : its production and role in vital phenomena. *An. Rep. Wisconsin Agric. Exper. St.*, **29**, 87-181.

1938. — Babers F. H. — An analysis of the blood of the sixth instar southern army-worm. *J. Agr. Res.*, **57**, 676-706.

1939. — Baker F. C. — The preparation of a relatively stable urease concentrate of blow-fly larvae (*Lucilia sericata* Meig.). *J. Parasitology*, **25**, 280.

1947. — Baldwin E. — An introduction to comparative Biochemistry. Cambridge University Press.

1909. — Battelli F., Stern E. — Recherches sur les échanges gazeux produits par le ferment uricolytique. *C. R. Soc. Biol.*, **66**, 411.

1956. — Baum H., Hubscher G., Malher H. R. — Studies on uricase. II. The enzyma-substrate complex. — III. The oxidation of uric by model copper complexes. *Biochim. biophys. Acta*, Pays-Bas, **22**, 514-27 ; 528-36.

1937. — Becker E. — Das Fehlen der Pterine in den Exkrementen pterinführender Insecten. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, **246**, 177-180.

1937. — Becker E. — Ueber das Pterinpigment bei Insekten und die Färbung und Zeichnung von *Vespa* in Besonderen. *Zeit. Morph. und. Oekol. Tiere*, **32**, 673-749.

1904. — Behrend R. — Uber die oxydation der Harnsaüre in alkalischer Lösung. *Ann. d. Chem. u. Pharm.* **333**, 141-60.

1922. — Benedict S. R. — The determination of uric acid in blood. *J. Biol. Chem.*, **51**, 187.

1954. — Bergmann F., Dikstein S. — Studies on uric acid and related compounds. I. Quantitative determination of uric acid in biological fluids. *J. Biol. Chem.*, U.S.A., **211**, 149-53.

1958. — Berkaloff A. — Les grains de sécrétion des tubes de Malpighi de *Gryllus domesticus* (Orthoptère Gryllidae). *C. R. Ac. Sc.*, **246**, 2807-9.
1959. — Berkaloff A. — Variations de l'ultra-structure des tubes de Malpighi et leur fonctionnement chez *Gryllus domesticus*. *C. R. Ac. Sc.*, **248**, 466-69.
1925. — Berlese A. — Gli insetti. Soc. ed. Libr. Milano.
1959. — Bheemeswar B. — Some aspects of amino acid metabolism in insects. *in* Proc. 4 th intern. congress of Biochemistry, Vienna, 1958, XII, Biochemistry of Insects, 78-89. Pergamon Press.
1925. — Bishop G. H., Briggs A. P., Ronzoni E. — Body fluids of the honey bee larva. II. Chemical constituents of the blood and their osmotic effects. *J. Biol. Chem.*, **66**, 77-88.
1929. — Blagoveschenski A. V. — On the relation betwen the chimical properties and the degrees of evolutionary development. *Biol. gen.*, **5**, 427-500.
1955. — Block R. J., Durrum E. L., Zweig G. — A manual for Paper chromatography and paper electrophoresis. Acad. Press, New-York.
1952. — Bode F., Hubener H. J. — Identification of uric acid and ascorbic acid by chromatography. *Nature G. B.*, **170**, 501.
1953. — Bodenstein D. — Studies on the humoral mechanisms in growth and metamorphosis of the cockroach *P. americana*. III. Humoral effects on metabolism. *J. Exp. Zool.*, **124**, 105-115.
1940. — Bottero G. — L'ammoniaca nei bachi da seta e sue variazione quantitative durante la vita intraovulare, la sviluppo larvale, la filature e lo stadio crisalidale. *Arch. Ist. Biochem. Ital.*, **12**, 113-27.
1946. — Branchini Scatizzi I. — Ricerche istochimische sui granuli di urati del tegumento di *Bombyx mori* L. *Boll. Soc. Ital. Biol. sper.*, **21**, 240-41.
1940. — Brighenti A. — Le variazioni del continuto in acido urico nel sangue e nei tegumenti di bachi a pelle opaca e bachi a pelle trasparente. — Le variazioni del continuto in acido urico durante lo sviluppo larvale a crisalidale. *Boll. Soc. Ital. Biol. sper.*, **13**, 196-7 ; 198-9.
1941. — Brighenti A. — E sperienze dirette a precisare i processi di formazione dell'acido urico rei bachi da seta. — L'acido urico nello sviluppo larvale della « *Phyllosamia ricini* ». *Atti Accad. Ital. Rend. Fis. Mat. Nat.*, **2**, 915-918 ; 919-922.
1941. — Brighenti A. — L'acido urico nei processi di sonno a di muta durante lo sviluppo larvale. *Boll. Zool.*, **12**, 19-32.
1940. — Brighenti A., Colla A. — Sul processo di formazione dell'acido urico nei bachi da seta. *Boll. Soc. Ital. Biol. sper.*, **13**, 197-98.
1953. — Brimley R. C., Barrett F. C. — Praticál chromatography. Chapman et Hall. London.
1936. — Brown A. W. A. — The excretion of ammonia and uric acid during the larval life of certain muscoïd flies. *J. Exp. Biol.*, **13**, 131-39.
1937. — Brown A. W. A. — Studies on the excreta of a grasshopper (*Melanoplus bivittatus* Say.) *J. Exp. Biol.*, **14**, 87-94.
1938. — Brown A. W. A. — The nitrogen metabolism of an Insect (*Lucilia sericata* Mg.) *Bioch. J.*, **32**, 895-911.
1936. — Brown A. W. A., Farber L. — On the deaminating enzyme of flesh-fly larvae. *Bioch. J.*, **30**, 1107-18.
1936. — Brunel A. — Le métabolisme de l'azote d'origine purique chez les Champignons. Thèse de Sciences, Paris.

1936. — Brunel A. — Un nouvel enzyme, l'allantoïcase. Sa présence dans le règne animal. *C. R. Ac. Sc.*, **204**, 380.

1937. — Brunel A. — Métabolisme de l'azote d'origine purique chez les Poissons et les Batraciens. I. II. III. *Bull. Soc. Ch. Biol.*, **19**, 806-826 ; 1027-1036 ; 1683-1696.

1938. — Brunel A. — Sur la dégradation des substances d'origine purique chez les Mollusques Lamellibranches. *C. R. Ac. Sc.*, **206**, 858-59.

1949. — Brunel A. — Traité pratique de chimie végétale. Georges Frère, Tourcoing.

1951. — Brunel A., Brunel-Capelle G. — Synthèse de l'acide allantoïque chez les Champignons Basidiomycètes. *C. R. Ac. Sc.*, **232**, 1130-32.

1947. — Brunel A., Capelle G. — Sur l'importance des uréides glyoxyliques chez les êtres vivants. *Bull. Soc. Ch. Biol.*, **29**, 427-444.

1950. — Brunel-Capelle G. — Sur la mise en évidence de l'allantoïcase chez les êtres vivants (Animaux). *C. R. Ac. Sc.*, **230**, 1979-1981.

1955. — Brunel-Capelle G. — Décarboxylation biologique de l'acide mésoxalique et contribution à l'étude du métabolisme des composés thiols chez les Végétaux. Thèse de Sciences, Paris.

1954. — Brunel A., Fischer P. H. — Sur la dégradation des composés d'origine purique chez les Mollusques. *Bull. Lab. mar. Dinard*, **40**, 32-38.

1945. — Buchanan O. H., Block W. D., Christman A. A. — The metabolism of the methylated purines. I. Enzymatic determination of urinary uric acid *J. Biol. Chem.*, **157**, 181-189.

1955. — Canellakis E. S., Cohen P. P. — The end products and intermediates of uric acid oxidation by uricase. *J. Biol. Chem.*, U.S.A., **213**, 385-95.

1897. — Chassevant A., Richet Ch. — Des ferments solubles euréopoïétiques du foie. *C. R. Soc. Biol.*, **48**, 743-44.

1941. — Chauvin R. — Physiologie du criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria* Forsk.). *Ann. Soc. Ent. Fr.*, **9**, 139-272.

1956. — Chauvin R. — Physiologie de l'Insecte, 2e éd., Inst. nat. Rech. Agronomique, Paris.

1932. — Chritsman A. A., Ravwitch S. — The determination of uric acid in human urine. *J. Biol. Chem.*, **95**, 115-126.

1944. — Condsen R., Gordon A. H., Martin A. J. P. — Qualitative analysis of proteine : a partition chromatography method using paper. *Bioch. J.*, **38**, 224.

1931. — Courtois-Drilhon A. — Etudes biochimiques sur la métamorphose des Lépidoptères. Thèse, Doin. Paris.

1895. — Cuénot L. — Etudes physiologiques sur les Orthoptères. *Arch. Biol.*, **14**, 293-341.

1951. — Cuénot L. — L'évolution biologique. Masson, Paris.

1942. — Davidson J. N. — The purification of Uricase. 2. Some properties of purified Uricase. *Biochem. J.*, **36**, 252.

1856. — Davy J. — Some observations on the excrements of insects. *Transact. ent. Soc.*, **3**, 18-32.

1960. — De Clerq M. — Les Purines. *Ann. biol.*, **36**, 5-51.

1931. — Delaunay H. — L'excrétion azotée chez les Invertébrés. *Biol. Rev.*, **6**, 265-301.

1934. — Delaunay H. — Rapports sur le métabolisme de l'ammoniaque. *Ann. Physiol. et Physicochim. biol.*, **10**, 695-724.

1947. — Dent C. E. — The amino-aciduria in Franconi Syndrome. A study making extensive use of techniques based on paper partition chromatography. *Biochem. J.*, **41**, 240-253.

1958. — Desai R. M., Kilby B. A. — Experiments on uric acid synthesis by insect fat body. *Arch. internation. Physiol. Biochim.*, Belg., **66**, 282-86.

1901. — De Sinety R. — Recherches sur la Biologie et l'Anatomie des Phasmes. Thèse. Paris.

1959. — Desnuelles P. — La chromatographie sur papier, *in* : Boulanger et Polonovski. Traité de Biochimie Générale, I, 593-596.

1956. — Dickstein S., Bergmann F., Chaimowitz M. — Studies on uric acid and related compounds. II. Paper chromatography of substituted xanthines and uric acids. *J. Biol. Chem.*, U.S.A., **221**, 239-51.

1938. — Donato B. G. — L'urea nel sangue di bachi in quinta eta e negli escrementi durante tutto sviluppo larvale e crisalidale. — L'urea nello sviluppo larvale dei bachi da seta di varie razze ed incroci. *Boll. Soc. Ital. Biol. sper.*, **13**, 735-36 ; 736-37.

1943. — Drilhon A., Busnel R. G. — Excrétion azotée et minérale chez un Insecte aquatique, le Dytique (*Dytiscus marginalis*). *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **68**, 21-28.

1946. — Drilhon A., Busnel R. G. — Documents sur le milieu intérieur d'un Insecte aquatique, pouvant servir à étayer une systématique biochimique. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **71**, 185-188.

1946. — Drilhon A., Florence G. — Compléments à l'étude biochimique et physicochimique du sang des Lépidoptères. *Bull. Soc. Chim. biol.*, **28**, 160-67.

1940. — Echevin R., Brunel A., Sartorius F. — Sur l'origine de l'allantoïne. *C. R. Ac. Sc.*, **211**, 71.

1957. — Edney E. B. — The water relations of terrestrial arthropods. Cambridge University Press.

1925. — Ehrenberg R. — Die Ekretion : Tracheaten. *in* : Winterstein, Handbuch der vergleichenden Physiologie. II. 2. Fischer, Iéna, 695-759.

1905. — Eppinger H. — Uber die Bildung von allantoïn in Tierkörper. *Beitr. Chem. Physiol. u. Pathol.*, **6**.

1911. — Faussek V. — Vergleichend-embryologische Studien (Zur Frage über die Bedeutung der Cölomhölen). *Z. wiss. Zool.*, **98**, 529-625.

1955. — Feichtmeir T. V., Vrenn H. T. — Direct determination of uric acid using uricase. *Amer. J. clin. Pathol.*, **25**, 833-39.

1929. — Felix R., Scheel F., Schuler W. — Die Urikolyse. *Zeitch. f. physiol. Chem.*, **180**, 90.

1953. — Fischer P. H., Brunel A. — Relation entre l'habitat des Gastéropodes et leur processus d'excrétion. *C. R. Soc. Biogeogr.*, **260**, 36-37.

1935. — Florkin M. — Où en est la Biochimie comparée ? *Ann. et Bull. Soc. Roy. Sc. Med. et Nat.*, Bruxelles, **9-10**, 71-84.

1937. — Florkin M. — Contributions à l'étude du plasma sanguin des Insectes. *Mém. Ac. Roy. Belg. Sc.*, **16**. 1-69.

1940. — Florkin M. — Concentration de l'ammoniaque in vivo et in vitro dans le milieu intérieur des Invertébrés. *Arch. intern. Physiol.*, **50**, 197-202.

1945. — Florkin M. — L'évolution du métabolisme des substances azotées chez les animaux. *Actual bioch.*, **3**. Masson, Paris.

1952. — Florkin M. — Caractères biochimiques des catégories supra-

spécifiques de la systématique animale. *Ann. Soc. Roy. Zool. Belg.*, **83**, 111-30.

1947. — Florkin M. — L'évolution biochimique. Masson, Paris.

1957. — Florkin M. — Biochimie et évolution animale. *Actes Soc. helv. Sci. nat.*, **137**, 35-53.

1943. — Florkin M., Duchateau G. — Les formes du système enzymatique de l'uricolyse et l'évolution du catabolisme purique chez les animaux. *Arch. intern. Physiol.*, **53**, 267.

1939. — Florkin M., Houet R. — Présence d'acide allantoïque dans le liquide coelomique d'Annélides et de Sipunculiens. *C. R. Soc. Biol.*, **131**, 1276-77.

1912. — Folin O., Macallum A. B. — On the blue color reaction of phosphotungstic acid with uric acid and other substances. *J. Biol. Chem.*, **11**, 265.

1913. — Fosse R. — Présence de l'urée chez les Invertébrés et dans leurs produits d'excrétion. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, **157**, 151-154.

1928. — Fosse R. — L'Urée. Presses Universitaires, Paris.

1935. — Fosse R. — Sur quelques principes découverts chez les végétaux grâce à de nouvelles méthodes d'analyse. L'urée, l'acide allantoïque, l'allantoïne levogyre et dextrogyre, l'acide urique. *Arch. Mus.*, **12**, 111-148.

1939. — Fosse R. — Uréogenèse et métabolisme de l'azote purique chez les Végétaux. Gauthier-Villars, Paris.

1929. — Fosse R., Brunel A. — Un nouveau ferment. *C. R. Ac. Sc.*, **188**, 426.

1929. — Fosse R., Brunel A. — Sur le ferment producteur d'acide allantoïque par hydratation de l'allantoïne. Sa présence dans le règne animal. *C. R. Ac. Sc.*, **188**, 1067.

1933. — Fosse R., de Graeve P., Thomas P. — Rôle de l'acide allantoïque chez les végétaux supérieurs. *C. R. Ac. Sc.*, **196**, 1264-67.

1929. — Frew J. G. H. — Studies in the metabolism of Insect metamorphosis. *Brit. J. Exp. Biol.*, **6**, 205-218.

1957. — Garcia I., Couerbe J., Roche J. — Sur le métabolisme oxydatif de la l-arginine chez les Insectes. Activités catalasiques et l-amino-acide oxydasique. *C. R. Soc. Biol.*, **151**, 1844-47.

1958. — Garcia I., Couerbe J. — Sur le métabolisme de l'arginine chez les Insectes. II. Relation entre les activités catalasiques et l-amino-acide oxydasique. *Bull. Soc. Ch. Biol.*, **40**, 799-806.

1958. — Garcia I., Couerbe J., Roche J. — Sur la présence d'arginase chez les Sauterelles *Schistocerca gregaria* Forsk. et *Eyprepocnemis plorans* Charp., *C. R. Soc. Biol.*, **152**, 1646-49.

1956. — Garcia I., Roche J., Tixier. — Sur le métabolisme hydrolytique de l'arginine chez les Insectes et sa signification métabolique. *C. R. Soc. Biol.*, **150**, 632-34.

1956. — Garcia I., Roche J., Tixier M. — Sur le métabolisme de la l-arginine chez les Insectes. *Bull. Soc. Chim. biol.*, **38**, 1423-33.

1961. — Gilmour D. — Biochemistry of Insects. Acad. Press. London.

1949-51. — Grassé P. P. — Traité de Zoologie. T. IX, X. Masson. Paris.

1958. — Grassé P. P. — L'effet de groupe sur l'animal et sur l'Homme. *J. Psych. norm. et path.*, **2**, 129-150.

1937. — Heidermans C. — Exkretion und Exkretstoffwechsel der Virbellosen. I. *Tabulae Biologicae*, **14**, 209-273.

1932. — Heller J., Aremowna H. — Uber der Harn der Schmetterlinge. *Z. Vergl. Physiol.*, **16**, 362-70.

1959. — Heller J., Jezewska M. M. — The synthesis of uric acid in the chinese Tussur moth (*Antherea pernyi*). *Bull. Acad. Pol. Sc., biol.*, **7**, 1-4.

1904. — Henneguy F. — Les Insectes. Masson. Paris.
1941. — Hitchcock F. A., Haub J. G. — The interconversion of foodstuffs in the blow-fly (*Phormia regina*) during metamorphosis. I. *Ann. entomol. Soc., amer.*, **34**, 17-25.
1931. — Hobson R. P. — Studies on the nutrition of blow-fly larvae. I. *Journ. Exp. Biol.*, **8**, 109-123.
1932. — Hobson R. P. — Studies on the nutrition of blow-fly larvae. II. III. IV. *Journ. Exp. Biol.*, **9**, 128-138 ; 366-377 ; 359-365.
1914. — Hollande A. C. — Formations endogènes des cristalloïdes et des urates des cellules adipeuses des chenilles de *Vanessa io*, et *Vanessa urticae*. *Arch. Zool. exp. génér.*, **53**, 559-578.
1926. — Hollande A. C., Cordebard H. — Notes chimiques et physiologiques se rapportant aux excréments de la teigne du crin. *Bull. Soc. Chim. biol.*, **8**, 631-35.
1935. — Hoskins W. M., Craig R. — Recent progress in Insect physiology. *Physiol. Rev.*, **15**, 525-596.
1957. — Hubscher G., Baum H., Mahler H. R. — Studies on uricase. IV. The nature and composition of some stable reaction products. *Biochim. biophys. Acta*, Pays-Bas, **23**, 43-53.
1957. — Imms A. D. — A general Textbook of Entomology. Methuen et C°, London.
1959. — Irreverre F., Terzian L. A. — Nitrogen partition in excreta of three species of mosquitoes. *Science*, U.S.A., **129**, 1358-59.
1955. — Jaenicke L. — Purine, *in* Hoppe-Seyler/Thierfelder. III. 2, 1245-1338.
1930. — Jucci C., Deiana G. — L'acido urico nel sangue dei bachi da seta. *Bull. Soc. Ital. Biol. Sperim.*, **5**, 167-70.
1947. — Kalckar H. M. — Differential spectrophotometry of purine compounds by means of specific enzymes. I. *J. Biol. Chem.*, **167**, 429-443.
1936. — Keilin D., Hartree E. T. — Uricase, amino-acid oxidase, und xanthine-oxidase. *Proc. roy. Soc. London*, B, **119**, 114-140.
1945. — Klemperer F. W. — Enzymatic oxydation of uric acid. *J. biol. Chem.*, **160**, 111-21.
1935. — Krebs H. A., Weil H. — Problèmes de Biologie et de Médecine, Vol. jub. dédié au Prof. L. Stern., Moscou-Leningrad, **32**.
1880. — Krukenberg C. F. W. — Vergleichend-physiologische Studien an den Kusten der Adria, I Reiche, 2 abt., 1-36.
1956. — Lacourt A. — La chromatographie quantitative sur papier, technique typiquement microchimique. *Mikrochimica Acta*. 700-733.
1957. — Lederer E., Lederer M. — Chomatography, Elsevier, Amsterdam.
1960. — Lederer E. — Chromatographie en chimie organique et biologique. Masson. Paris, **2**.
1935. — Leifert H. — Untersuchungen über den Exkretstoffwechsel bei Eiern, Raupen und Puppen von *Antherea pernyi*. *Zool. Jahrb., Physiol.*, **55**, 131-90.
1940. — Lennox F. G. — Distribution of ammonia in larva of *Lucilia cuprina* Wied. *Nature*, **146**, 268.
1955. — Leone E. — Studi sull'uricasi. *Arch. Sci., biol., Ital.*, **39**, 605-11.
1950. — Levenbook L. — The composition of the horse bot fly (*Gastrophilus intestinalis*) larva blood. *Biochem., J.*, **47**, 336-46.
1956. — L'Helias C. — Les hormones du complexe rétrocérébral du Phasme *Carausius morosus* Br., action chimique et identification du squelette commun de ces hormones. *Ann. biol.*, **32**, 203-19.

1957. — L'Helias C. — Isolement de substances pré- ou co-hormonales du complexe postcérébral de *Carausius morosus* et de *Clitumnus extradentatus* (Insectes, Chéleutoptères). *Bull. biol. Fr. et Belg.*, **91**, 241-63.

1959. — Lisa J. D., Ludwig D. — Uricase, guanase, and xanthine-oxydase from the fat-body of the cockroach (*Leucophaea maderae*). *Ann. entomol. Soc., amer.*, **52**, 548-51.

1956. — London M., Hudson P. B. — Purification and properties of solubilized uricase. *Biochem. biophys. Acta*, Pays-Bas, **21**, 290-8.

1956. — Ludwig D., Cullen W. P. — Effects of starvation on uric acid, allantoïn, and urea content of japanese beetle (*Popillia japonica* Newman) blood. *Physiol. Zool.*, U.S.A., **29**, 153-57.

1943. — Lwoff A. — L'Evolution physiologique. Hermann. Paris.

1957. — Mac Enroe W., Forgash A. — The in vivo-incorporation of C 14 formate in the ureide groups of uric acid by *Periplaneta americana* L. *Ann. entomol. Soc. amer.*, **50**, 429-31.

1958. — Mac Enroe W. D., Forgash A. J. — Formate metabolism in the American cockroach, *Periplaneta americana* L. *Ann. entomol. Soc. amer.* **51**, 126-29.

1955. — Mahler H. R., Hubscher G., Baum H., Colmano G. — Studies on uricase. I. Preparation, purification and properties of a cuproprotein. *J. Biol. Chem.*, U.S.A., **216**, 625-41.

1956. — Malher H. R., Baum H. M., Hubscher G. — Enzymatic oxydation of urate. *Science*, U.S.A., **124**, 705-8.

1959. — Mahmoud Hafez, Haggag G., Elmoursy A. A. — Storage excretion in some insect larvae with blocked hind gut. (*Diptera* and *Neuroptera*). *Bull. Soc. entomol.*, Egypte, **43**, 85-8.

1938. — Malœuf N. S. R. — Physiology of excretion among the Arthropoda. *Physiological Reviews*, **18**, 28-58.

1934. — Manunta C. — Variazioni del continuto in acido urico del sangue di bachi normali e trasparenti. *Boll. Soc. Ital. di Biol. sperim.*, **9**, 768-9.

1942. — Manunta C. — Sull metabolismo dell'azoto in *Phylosamia ricini*, razza a « pelle trasparente ». *Sci. Genetica*, Turin, **2**, 252-272.

1947. — Manunta C. — Sul metabolismo dell'azoto nelle varie di bachi di seta. I, II. *Sci. Genet.*, Ital., **3**, 48-55 ; 56-66.

1948. — Manunta C. — Sul metabolismo dell'azoto in *Bombyx mori* L., III. IV. *Atti Accad. nazion. Lincei, Rendic. Sci. fis. mat. nat.*, **4**, 117-21 ; 211-13.

1949. — Manunta C. — Nitrogen metabolism in silkworms. *Hereditas*, Suppl., Suède, **624**.

1890. — Marchal P. — L'acide urique et la fonction rénale chez les Invertébrés. *Mém. Soc. Zool. Fr.*, **3**, 31-87.

1910. — Marchal P. — Physiologie de l'Insecte, *in* : Diction. Physiol. Ch. Richet, **9**, 344-347.

1949. — Markham R., Smith J. D. — Chromatographie studies of nucleic acids. I. A technique for the identification and estimation of purine and pyrimidine bases, nucleosides and related substances. *Biochem. J.*, **45**, 294-98.

1957. — Mason H. S. — Mechanisms of oxygen metabolism. *Adv. Enzymol.*, U.S.A., **19**, 79-233.

1945. — Mathée S. — Biochemical differences between the solitary and gregarious phases of Locust and Noctuids. *Bull. Ent. Res.*, **36**, 344-371.

1959. — Mellors R. C. — Analytical Cytology. 2e éd., Mac Graw-Hill, New-York.

1930. — Meyer P. F. — Untersuchungen über die Aufnahme pflanzlichen Farbstoffe in der Körper von Lepidopterenlarven. *Zeitschr. f. vergl. Physiol.*, **11**, 173-209.
1932. — Michelbacher A., Hoskins W. M., Herms W. B. — The nutrition of flesch-fly larvae. I. The adequacy of sterile synthetic diets. *J. exp. Zool.*, **64**, 109-132.
1955. — Monod J. — Données nouvelles sur la biosynthèse des enzymes. Adaptation ezymatique. *in* « Exposés annuels de biochimie médicale » publiés à la mémoire de Polonovski. 17e S., Masson, Paris. 195-211.
1938. — Mourot G. — Les termes ultimes du métabolisme purique chez les Mammifères. *C. R. Ac. Sc.*, **207**, 407.
1941. — Mosher H. H. — Testing of moth-proofing preparations and identification of moth defects. *Amer. Dyestuff Reptr.*, **30**, 320-326.
1958. — Nakada H. I., Sund L. P. — Glyoxylic acid oxydation by rat liver. *J. biol. Chem.*, U.S.A., **233**, 8-13.
1935. — Needham J. — Problems of nitrogen catabolism in Invertebrates. *Bioch. Journ.*, **29**, 238-251.
1950. — Needham J. — Biochemistry and Morphogenesis. Cambridge, University Press.
1958. — Nelson W. A. — Purine excretion by the sheep ked, *Melophagus ovinus* L. *Nature*, G. B., **182**, 115.
1920. — Nemec A. — Uber Uricase in Samen organismus. *Biochem. Zeit.*, **112**, 286.
1954. — Nordmann R., Gauchery O., du Ruisseau J. P., Thomas Y., Nordmann J. — Chromatographie sur papier des acides organiques non volatils des liquides biologiques. II. Le chromatogramme qualitatif de l'urine humaine normale. *Bull. Soc. Chim. biol.* **36**, 1641-54.
1957. — Nordmann R., Marty A., Tholozan A., Nordmann J. — Détermination des acides organiques du plasma humain par chromatographie sur papier. *C. R. Ac. Sc.*, **245**, 2414-17.
1954. — Osteux R., Laturaze J. — Chromatographie sur papier des acides organiques fixés de l'urine. *C. R. Ac. Sc.*, **239**, 512.
1939. — Pardi L. — I corpi grassi degli Insetti. Redia, **25**, 87-289.
1954. — Paul K. G., Avi-Dor Y. — The oxydation of uric acid with horse radish peroxidase. *Acta chem. Scand.*, **8**, 637-648.
1936. — Payne N. M. — Excretory products of the mediterranea flour moth larva *Ephestia kuhniella* Zell. *Anat. Rec. Philadelphia.*, **67**, 37.
1910. — Pérez C. — Recherches histologiques sur la métamorphose des Muscides. *Arch. Zool. exper.*, **4**, 1-274.
1925. — Poisson R. — Sur un processus particulier d'élimination des produits uriques chez certains Hémiptères. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **50**, 116-124.
1952. — Poisson R., Razet P. — Recherches sur les uréides glyoxyliques et leurs enzymes chez le Phasme *Carausius morosus* Br. *C. R. Ac. Sc.*, **234**, 1804-06.
1953. — Poisson R., Razet P. — Recherches sur la dégradation de l'acide urique chez les Hémiptères aquatiques. *C. R. Ac. Sc.*, **237**, 1362-63.
1949. — Portier P. — La Biologie des Lépidoptères. Lechevalier. Paris.
1953. — Powning R. F. — Studies on the digestion of wool by Insects. VIII. *Austral. J. Biol. Sci.*, **6**, 109-117.
1948. — Praetorius E. — The enzymatic conversion of uric acid. Spectrophotometric analysis. *Biochem. biophys. Acta.*, **2**, 602-13.

1949. — Praetorius E. — An enzymatic method for the determination of uric acid by ultra-violet spectrophotometry. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **1**, 222-30.
1952. — Prosser C. L. et Coll. — Comparative animal physiology. Saunders. Philadelphia.
1925. — Przylecki St. J. — La dégradation de l'acide urique chez les Vertébrés. I. II. *Arch. Intern. Physiol.*, **24**, 237-264 ; 317-355.
1926. — Przylecki St. J. — La dégradation de l'acide urique chez les êtres vivants. V. *Arch. Intern. Physiol.*, **27**, 159-202.
1928. — Przylecki St. J. — Préparation de l'uricase. *C. R. Soc. Biol.*, **98**, 787.
1928. — Przylecki St. J., Truszkowski R. — Mode d'action de l'uricase. Propriétés de l'uricase. *C. R. Soc. Biol.*, **98**, 789-90.
1943. — Purrmann R. — Uber die Farbstoffe der Schmetterlinge. *Die chimie*, **56**, 253-58.
1958. — Ramsay J. A. — Excretion by the Malpighian tubules of the stick insect, *Dixippus morosus* (*Orthoptera, Phasmidae*) : amino-acids, sugars and urea. *J. exp. Biol.*, G. B., **35**, 871-91.
1957. — Rangier M., Thiroux G., de Traverse P. M. — Etude électrophorétique de la forme de l'acide urique dans l'urine et dans le sang. *Ann. Biol. Clin.*, **15**, 667-72.
1953. — Rauen H. M. — Chromatographie. *in* Hoppe-Seyler/Thierfelder. I., 122-260.
1952. — Razet P. — Catabolisme des purines chez le Collembole *Xenylla velchii* Folsom. *C. R. Ac. Sc.*, **234**, 2566-68.
1953. — Razet P. — Recherches sur la localisation des enzymes uricolytiques chez les Insectes. *C. R. Ac. Sc.*, **236**, 1304-06.
1954. — Razet P. — Sur l'élimination d'acide allantoïque par quelques Insectes Lépidoptères. *C. R. Ac. Sc.*, **239**, 905-907.
1956. — Razet P. — Sur l'élimination simultanée d'acide urique et d'acide allantoïque chez les Insectes. *C. R. Ac. Sc.*, **243**, 185-87.
1957. — Razet P. — L'uricolyse chez les Insectes. *Arch. Orig. Serv. Docum. C.N.R.S.*, **361**.
1954. — Reuter G., Wolffgang H. — Vergleichende Untersuchungen über den Character der Stickstoff-Verbindungen von Baumblutungssäften bei Betulaceen und anderen Holzarten. *Flora*, Dtsch., **142**, 146-55.
1935. — Robinson W. — Allantoin, a constituent of maggot excretions, stimulates chealing of chronic discharging wounds. *J. parasitology*, **21**, 354-58.
1939. — Robinson W., Baker F. C. — The enzyme urease and the occurence of ammonia in maggot-infected wounds. *J. parasitology*, **25**, 149-155.
1939. — Robinson W., Wilson G. S. — Changes in the concentration of urease during pupal development of the blow-fly *Phormia regina*. *J. parasitology*, **25**, 455-59.
1936. — Rocco M. L. — Présence de l'allantoïnase chez les Insectes. *C. R. Ac. Sc.*, **202**, 1947-1948.
1938. — Rocco M. L. — Le métabolisme des composés d'origine purique chez les Insectes. *C. R. Ac. Sc.*, **207**, 1006-1008.
1953. — Roeder K. D. — Insect physiology. Wiley. New-York.
1931. — Rosa D. — L'ologenèse. Alcan. Paris.
1956. — Ross H. — A textbook of Entomology. Wiley. New-York.
1922. — Roubaud E. — Etudes sur le sommeil d'hiver pré-imaginal des Muscides. Les cycles d'asthénie et l'athermobiose réactivante spécifique. *Bull. Biol. Fr. Belg.*, **56**, 456-544.

1923. — Roubaud E. — Les disharmonies de la fonction rénale et leurs conséquences biologiques chez les Moustiques. Les faits et leurs applications. *Ann. Inst. Pasteur,* **37**, 627-79.

1893. — Rywosch D. — Allgemeines über Tierharn. *Wiener med. Wochenschrift,* **47**, 1882.

1951. — Schein A. H., Polber E., Novikoff A. B. — The intracellular localization of uricase. *J. Biol. Chem.*, **190**, 331-337.

1952. — Schneider W. C., Hoceboom G. B. — Intracellular distribution of enzymes. IX. *J. Biol. Chem.*, U.S.A., **195**, 1616.

1959. — Schneider W. C. — Mitochondrial metabolism. *Adv. Enzymol.*, U. S. A., **21**, 1-72.

1950. — Schindler J. — Reservestoff und Exkretspeicherung bei Bodentieren, unter besonderer Berücksichtigung der Harnsaüre-verbindungen. *Oesterr. Zool.* z. **5-6**, 517-67.

1905. — Schittenheln A. — Uber die Harnsaüre-bildung und die Harnsaürezersetzung in den Auszägen der Rinder-organe. Uber das urikolytische Ferment. *Ztschr. phys. Chemie,* **45**, 121-51 ; 161-65.

1939. — Schöpf C., Kottler C., Reichert A. — Allantoïn as Spaltstück der Pigment von Pieriden. *Lieb. Ann. d. Chem.*, **539**, 168-78.

1925. — Schulz F. N. — Die Verdauung der Raupe der Kleidermotte *Tinea pellionella. Bioch. Z.*, **156**, 124-29.

1958. — Sedee J. W. — Dietetic requirements and intermediary protein metabolism of an insect (*Galliphora erythrocephala* Meig.). *Entomol. exper. appl.*, Pays-Bas, **1**, 38-40.

1950. — Séguy E. — La biologie des Diptères. *Encyclop. entomol.*, **26**, Lechevalier. Paris.

1904. — Simon L. I. — Sur les uréides glyoxyliques : Allantoïne et acide allantoïque. *C. R. Ac. Sc.*, **138**, 425-428.

1859. — Sirodot S. — Recherches sur la sécrétion urinaire chez les Insectes. *Ann. Sc. Nat. Zool.*, **10**, 141-89.

1959. — Sissakian N. M. — Sur les travaux de l'Institut de Biochimie A. N. Bach (Moscou). *Ann. Biol.*, **35**, 44-67.

1935. — Snodgrass R. E. — Principles of Insect morphology. Mc. Graw-Hill. London.

1955. — Staddon B. W. — The excretion and storage of ammonia by the aquatic larva of *Sialis lutaria* (*Neuroptera*). *J. exp. Biol.*, G. B., **32**, 84-94.

1959. — Staddon B. W. — Nitrogen excretion in nymphs of *Aeschna cyanea* Mull. (*Odonata, Anisoptera*). *J. exp. Biol.*, G. B., **36**, 566-74.

1940. — Tartter A. — Harnsaüre and Hypoxanthin als Pigmentbestandteile der Flügel von Pieriden. *Zeit. f. physiol. Chem.*, **266**, 130-140.

1957. — Terzian L. A., Irreverre F., Stahler N. — A study of nitrogen and uric acid patterns in the excreta and body tissues of adult *Aedes aegypti. J. Insect Physiol.*, G. B., **1**, 221-28.

1940. — Timon-David J. — Fragments de biochimie entomologique. Hormones et milieu intérieur chez les Insectes. *Ann. Fac. Sci. Marseille,* **13**, 237-307.

1941. — Timon-David J. — Fragments de biochimie entomologique. II. Pigments. Aliments de digestion. Vitamines. *Ann. Fac. Sci. Marseille,* **15**, 49-165.

1945. — Timon-David J. — Fragments de biochimie entomologique. III. Excrétion et sécrétion. *Ann. Fac. Sci. Marseille*, **16**, 179-235.

1947. — Timon-David J. — Fragments de biochimie entomologique. IV. Pigments des Insectes. *Ann. Biol.*, **23**, 237-65.

1936. — Tomita M., Kumon T. — Zur Chemie der Fliegen-larven. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* (Hoppe-Seylers), **238**, 101-104.

1952. — Toth L. — The role of nitrogen : Active microorganism in the nitrogen Metabolism of Insect. *Tidschrift. V. Entomol.*, **95**, 43-59.

1935. — Truszkowski R., Chajkinowna S. — Nitrogen metabolism of certain Invertebrates. *Biochem. J.*, **29**, 2661-65.

1928. — Uvarov B. P. — Insect nutrition and metabolism. A summary of the Litterature. *Trans. of the entomol. Soc.*, London, **76**, 255-343.

1949. — Vandel A. — L'homme et l'évolution. Gallimard, Paris.

1960. — Vellas F., Brunel A. — Sur le dosage des uréides glyoxyliques chez les végétaux : Acide allantoïque. *C. R. Ac. Sc.*, **250**, 2424-26.

1905. — Veneziani A. — Valore morphologico e fisiologico dei tubi malpighiani. *Redia*, **2**, 177-203.

1947. — Vischer E., Chargaff E. — The separation and characterisation of purines in minute amounts of nucleid acid hydrolysates. *J. Biol. Chem.*, **168**, 781-82.

1948. — Vischer E., Chargaff E. — The separation and quantitative estimation of purines and pyrimidines in minute amounds. *J. Biol. Chem.*, U.S.A., **176**, 703-14.

1903. — Von Furth O. — Vergleichende chemische Physiologie der niederen Tiere. Fischer, Iena.

1938. — Weber H. — Grundriss der Insektenkunde. **1**, Fischer, Iena.

1909. — Weinland E. — Chemische Beobachtungen an der Fliege *Calliphora. Biol. Cbl.*, **29**, 564-77.

1907. — Wiechowski W. — Die produkte der fermentativen Harsaürezersetzung durch tierische Organe. *Hofmeister Beitrage zur Chem. Physiol. u. Pathol.*, **9**, 295.

1907. — Wiechowski W. — Die Bedentung des allantoin im Harsaürestoffwechsel. *Hofmeister Beitrage zur Chem. Physiol. u. Pathol.*, **11**, 109.

1913. — Wiechowski W. — Die Purinstoffe und das Allantoin. *In* Neubauer-Huppert, Analyse des Harns, Wiesbaden. II., 904-1080.

1907. — Wiechowski W., Wiener H. — Uber Eigenschaften und Durstellung des harsaürezerstörenden Ferments der Rinderniere und der Hundeleber. *Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol.*, **9**, 247-295.

1933. — Wieland H., Metzger H., Schopf C., Bulow M. — Ueber Leukopterin, das Flügelpigment des Kohlweisslinge (Pieriden). *Lieb. Ann. d. Chem.*, **507**, 226-265.

1902. — Wiener H. — Uber die Synthese Bildung der Harnsaüre in Tierkörper. *Beitr. Chem. Physiol. u. Pathol.*, **2**, 42-85.

1924. — Wigglesworth V. B. — Uric acid in the Pieridae. *Proc. Roy. Soc.*, London, **97**, 149-155.

1931. — Wigglesworth V. B. — The physiology of excretion in a blood-sucking insect, *Rhodnius prolixus* (*Hemiptera, Reduviidae*). I, II. *J. exp. Biol.*, **8**, 411-51.

1950. — Wigglesworth V. B. — Principles of Insect Physiology. Methuen. London.

1956. — Yamafuji K., Eto M., Yoshihara F. — Uric acid in nuclear preparations from silkworms. *Enzymologia*, Pays-Bas, **17**, 297-99.

1953. — Zelitch I., Ochoa J. — Oxidation and reduction of glycolic and glyoxylic acids in plants. *J. Biol. Chem.*, **201**, 707-26.

1952. — Zielenska Z. M. — Studies on the biochemistry of *Galleria melonella*. Nitrogen metabolism of the larvae. *Acta. Biol. exp.*, Pologne, **16**, 171-86.

1956. — Zimmermann R. — Nachweis und Trennung von Allantoin, Allantoïnsaüre, Harnstoff und Glyoxylsaüre durch Papierelektrophorese. *Naturwissenschaffen*, Dtsch., **43**, 399.

## TABLE DES MATIÈRES


INTRODUCTION. — L'ACIDE URIQUE ET L'URICOLYSE .. 5

PREMIÈRE PARTIE. — MATERIEL ET TECHNIQUES ..... 10

I. — *Matériel* ..... 10

Origine du matériel ..... 10
Traitement du matériel ..... 12
*a* - Recherche et étude des enzymes ..... 12
*b* - Recherche de l'acide urique et des autres catabolites ..... 13

II. — *Techniques analytiques* ..... 16

Techniques physico-chimiques ..... 16

*a* - Traitement des solutions à analyser ..... 16

*b* - Réactions de caractérisation et de dosage ..... 17
1) Acide urique ..... 17
2) Acide glyoxylique ..... 19
3) Acide allantoïque ..... 20
4) Allantoïne ..... 21
5) Ammoniaque ..... 22

*c* - Protocoles utilisés ..... 23
1) Recherche et étude des enzymes ..... 23
2) Recherche de l'acide urique et des uréides glyoxyliques ..... 24

Chromatographie sur papier ..... 25

*a* - Généralités ..... 25
1) Principes ..... 25
2) Application à la recherche de l'acide urique, des uréides et de l'urée ..... 27

*b* - Protocoles adoptés ..... 29
1) Solvants employés ..... 29
2) Préparation des chromatogrammes ..... 30
3) Développement des chromatogrammes .... 32
4) Révélation des chromatogrammes ..... 32

Conclusion ..... 33

SECONDE PARTIE. — LES ENZYMES DE L'URICOLYSE .. 35

I. — *L'Uricase* ..... 36

Recherche générale de l'uricase chez les Insectes ..... 38
*a* - Recherche qualitative ..... 38
*b* - Activité comparée ..... 40
*c* - Discussion des résultats ..... 45

Essais de localisation de l'uricase ..... 47

Sur quelques facteurs affectant l'action de l'uricase .... 48
*a* - Activité comparée de diverses poudres enzymatiques ..... 50
*b* - Recherche du pH optimum ..... 52
*c* - Recherche de la température optimale ..... 54
*d* - Influence de la concentration en matériel enzymatique ..... 56
*e* - Activité de l'uricase en fonction du temps ..... 58
*f* - Conservation de l'uricase ..... 59

Discussion générale et conclusion sur l'uricase ..... 60

II. — *L'Allantoïnase* ..... 63

Recherche générale de l'allantoïnase chez les Insectes .. 64
*a* - Recherche qualitative ..... 64
*b* - Activité comparée ..... 65
*c* - Discussion des résultats ..... 70

Essais de localisation de l'allantoïnase ..... 72

Sur quelques facteurs affectant l'action de l'allantoïnase. 74
*a* - Activité comparée de diverses poudres enzymatiques ..... 74
*b* - Recherche du pH optimum ..... 75
*c* - Recherche de la température optimale ..... 78
*d* - Influence de la concentration en matériel enzymatique ..... 79
*e* - Activité de l'allantoïnase en fonction du temps .. 81
*f* - Conservation de l'enzyme ..... 82

Discussion générale et conclusion sur l'allantoïnase .... 84

III. — *L'Allantoïcase* ..... 87

Recherche générale de l'allantoïcase chez les Insectes .. 88
*a* - Recherche qualitative ..... 88
*b* - Activité chez *Acheta domestica* ..... 89
*c* - Activité du complexe allantoïnase-allantoïcase chez *Acheta domestica* ..... 91

Essais de localisation de l'allantoïcase ..... 92

Sur quelques facteurs affectant l'action de l'allantoïcase. 94
*a* - Poudres enzymatiques utilisées ..... 94
*b* - Recherche du pH optimum ..... 94
*c* - Recherche de la température optimale ..... 96
*d* - Influence de la concentration en matériel enzymatique ..... 96
*e* - Activité de l'allantoïcase en fonction du temps .. 97
*f* - Conservation de l'allantoïcase ..... 99

Discussion et conclusion sur l'allantoïcase ..... 100

Conclusion générale sur l'étude des enzymes de l'uricolyse ..... 102

TROISIÈME PARTIE. — L'ACIDE URIQUE ET SES CATABOLITES ..... 104

I. — *Des résultats et de leur valeur en fonction des méthodes* ..... 105

Rappel et critique des travaux antérieurs ..... 105
*a* - Acide urique ..... 105
*b* - Uréides glyoxyliques ..... 108
*c* - Urée et ammoniaque ..... 108

Recherches effectuées dans le présent travail ..... 111
*a* - Méthodes physico-chimiques ..... 111
1) Acide urique ..... 111
2) Uréides glyoxyliques ..... 111
3) Ammoniaque ..... 112
*b* - Chromatographie sur papier ..... 112
1) Acide urique ..... 112
2) Uréides glyoxyliques ..... 112
3) Urée ..... 113

Discussion et conclusion ..... 113

II. — *Acide urique et uréides glyoxyliques dans les tissus des Insectes* ..... 116

Sous-classe des Aptérygotes ..... 117
Sous-classe des Ptérygotes ..... 117
Section des Paléoptères ..... 117

Section des Polynéoptères ..... 118
Section des Paranéoptères ..... 120
Section des Oligonéoptères ..... 121

Super-ordre des Coléoptéroïdes ..... 122
Super-ordre des Névroptéroïdes ..... 123
Super-ordre des Hyménoptéroïdes ..... 123
Super-ordre des Mécoptéroïdes ..... 124

Discussion et conclusion ..... 127

II. — *Acide urique et ses catabolites dans les excreta des Insectes Ptérygotes* ..... 129

Section des Polynéoptères ..... 129
Section des Paranéoptères ..... 131
Section des Oligonéoptères ..... 132

Ordre des Coléoptères ..... 132
Ordre des Plannipennes ..... 133
Ordre des Hyménoptères ..... 133
Ordre des Diptères ..... 135
Ordre des Lépidoptères ..... 135

*a*) Excreta émis à chacun des 3 états principaux .... 136
1) Excreta des chenilles au dernier stade ..... 136
2) Méconium ..... 141
3) Excreta des imagos ..... 143

*b*) Excreta des chenilles analysés en fonction du développement ..... 145

Discussion et conclusion ..... 153

Conclusion générale sur l'acide urique et ses catabolites .. 154

DISCUSSION GENERALE ..... 160

*a* - L'acide urique et l'uricolyse dans la vie individuelle de l'Insecte ..... 161

*b* - L'acide urique et l'uricolyse en fonction de la phylogénèse et de l'évolution des Insectes ..... 168

APPENDICE :

Tableau de distribution des enzymes de l'uricolyse et des catabolites correspondants chez les Insectes ..... 174

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE ..... 190

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ :

# LES DIFFÉRENTS TYPES DE CELLULES SECRÉTRICES DANS L'HYPOPHYSE DES VERTÉBRÉS ET LEURS FONCTIONS

Vu :
*Le Président de la thèse,*
R. POISSON.

Vu et approuvé :

Rennes, le 5 mai 1961

*Le Doyen de la Faculté des Sciences,*

Y. MARTIN.

Vu
et Permis d'imprimer :
N° 819/s/mc

Rennes, le 5 mai 1961

*Le Recteur de l'Académie de Rennes,*

H. LE MOAL.

Imp. Bretonne, Rennes. - Dépôt légal 1961, 3e T. 673.